

Aus dem I. Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. H. J. Merker

Morphologische Untersuchungen an den Gaumenfalten während der Palatogenese bei Mäuseembryonen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rainer Souchon
aus Berlin

1976

Aus dem I. Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. med. H. J. Merker

Morphologische Untersuchungen an den Gaumenfalten während der Palatogenese bei Mäuseembryonen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Rainer Souchon
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. H.J. Merker

Korreferent: Professor Dr. med. dent. H. Lenz



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 10. März 1976

I N H A L T

	Seite
Einleitung	1
Material und Methoden	10
a) Makroskopie	10
b) Histologie	11
c) Elektronenmikroskopie	11
Befunde	13
1. Makroskopische Befunde	13
2. Lichtmikroskopische Befunde	17
a) vertikal herabhängende Gaumenfalten	17
b) Phase der Gaumenfaltenumlagerung	19
c) horizontalisierte, noch nicht fusionierte Gaumenfalten	21
d) Fusion der Gaumenfalten	23
3. Elektronenmikroskopische Befunde	24
a) vertikal herabhängende Gaumenfalten	24
b) Aufrichtungsphase der Gaumenfalten	27
c) Präfusionsepithel	27
d) Fusionsphase der Epithelien	29
Diskussion	33
Zusammenfassung	55
Literatur	
Abbildungen	
Lebenslauf	

Einleitung

Die Entwicklung, Aufrichtung und Verschmelzung der Gaumenfalten zum sekundären Gaumen finden bei der Maus zwischen Tag 12 und 15 p.c. statt (WALKER and FRASER, 1956; ANGELICI and POURTOIS, 1968; SWENEY and SHAPIRO, 1970; u.a.). Die Gaumenbildung ist am Tag 14 p.c. - bei einigen Stämmen am Tag 15 p.c. - mit der zunächst epithelialen und der sich unmittelbar anschließenden mesenchymalen Fusion beider Gaumenfalten abgeschlossen. Diese Bildung des sekundären Gaumens, mit der die Nasooralkavität in die sekundäre, definitive Nasenhöhle und in die sekundäre, definitive Mundhöhle unterteilt wird, ist Bestandteil der als "früh-fetalen Entwicklung" (v. KREYBIG, 1968) bezeichneten Entwicklungsphase, in der sich auch die übrige Gesichtsregion ausdifferenziert. Bei der Bildung des sekundären Gaumens lassen sich mehrere morphologisch erfaßbare Vorgänge voneinander abgrenzen (vgl. Einteilung bei WALKER and FRASER, 1956; POURTOIS, 1968; SWENEY and SHAPIRO, 1970; SMILEY and KOCH, 1971, 1972; WATERMAN and MELLER, 1974):

1. Die Aufrichtung der lateral zur Zunge herabgewachsenen, paarigen Gaumenfalten in eine horizontale Position, so daß die Zunge kuppelförmig von ihnen überdacht wird,
2. Kontakt und Anheftung der medialen Gaumenfaltenepithelien aneinander als ersten Schritt des Verschmelzungsvorganges der Gaumenfalten,
3. Auftreten von epithelialen Degenerationen im Fusions-epithel und vollständige Epithelauflösung, durch die eine nachfolgende mesenchymale Fusion ermöglicht wird.

Zu 1. Die Aufrichtung der Gaumenfalten aus ihrer lateral zur Zunge befindlichen, vertikalen Position in eine horizontale, die Zunge überdachende, ist eine für die Fusion der Gaumenfalten notwendige Vorbedingung. Der Mechanismus der Gaumenfaltenaufrichtung ist vielfach untersucht (zusammenfassende Angaben aus der Literatur bei NEUNER, 1970).

Nach COLEMAN (1965), der mehrere frühere Hypothesen zusammenfaßt, lägen der Horizontalisierung der Gaumenfalten zwei verschiedene, lageabhängige Mechanismen - a) Rotation und b) Umlagerung mit einmaligem Wechsel der Hauptwachstumsrichtung - zugrunde. Eine Rotation fände dabei im anterioren Abschnitt der Gaumenfalten, eine horizontal gerichtete Aussprossung der medialen Gaumenfaltenoberfläche in medianen und posterioren Gaumenfaltenbereichen statt. Grundlage für diese Aufteilung in zwei verschiedene Mechanismen ist die Beobachtung einer unterschiedlichen Dichte mesenchymaler Zellen im anterioren (rostralen) und im posterioren Gaumenfaltenanteil während der Vor-Aufrichtungsphase (WALKER and FRASER, 1956). Hieraus wird nach BLUNK (1970) abgeleitet, daß für den zell dichteren anterioren Gaumenfaltenabschnitt die Aufrichtungsbewegung in erster Linie durch den Proliferationsdruck des Mesenchyms erfolge, während für die Aufrichtung des posterioren Anteils im wesentlichen Turgorschwankungen im Interzellularraum anzunehmen seien. Bestünde ein solcher für die medianen und posterioren Gaumenfaltenanteile geforderter Mechanismus der Umlagerung, so müßte er morphologisch verifizierbar sein, z.B. durch mesenchymale Zellverdichtungen in diesen Bereichen.

Eng verknüpft mit der Frage nach den formalen Mechanismen ist die nach den sie ermöglichenden Faktoren. WALKER and FRASER (1956) bezeichnen diese Faktoren zusammenfassend als die "die Faltenaufrichtung ermöglichende innere Kraft (intrinsic force)" der Gaumenfalten. Ihr morphologisches Substrat ist noch nicht ermittelt. Ein elektronenoptischer Nachweis eines elastischen Faserwerks oder anderer möglicher Strukturelemente konnte noch nicht erbracht werden (WALKER, 1961; STARK and EHRMAN, 1958), so daß eine Veränderung des Gewebsdruckes als mutmaßlicher Faktor diskutiert wird (WALKER, 1961; LARSSON, 1962). Die Änderung des Turgors, d.h. eine Änderung in der Plastizität der Gaumenfaltengrundsubstanz, steht in Abhängigkeit zur Quantität Wasser-bindungsfähiger, interzellulärer MPS-Proteinkomplexe, ihrem Polymerisationsgrad bzw. ihrem Aggregatzustand sowie ihrer qualitativen Zusammensetzung. Entsprechende Veränderungen bewirken vermutlich einen Druck- oder

Spannungsanstieg
der Gaumenfalte
(1962).

Die eigenen Ursachen
für die Faltenbildung
hand einer Plaque
sollen Zeit
in den verschoben
werden.

Zu 2. Der Fusion
in unterschiedlichen
worden (z.B. SMILEY und KOCHE,
takt der äußeren
medialen Gaumenfalte
im anterioren
FARBMAN, 1968;
wie gearteten
logischen Veränderungen
lichen Zellalteration
alen Fusionsstrukturen
branen (MATO et al.,
FARBMAN, 1968;
DIXON, 1968; SMILEY,
danach ist eine
sionslinie hinweisend
wodurch dann die
reicht ist (WATSON und
TOIS, 1968; FARBMAN, 1968).

Von den für die
sei der Vorgang
beider medialen

Das mediale Gaumen
tional vom Übergang
von einem klar
1966; VARGAS, 1966;
gegenüberliegenden
stabile Anhaftung

(POURTOIS, 1966; VARGAS, 1967; FARBMAN, 1968). Der auslösende Schritt für den Erwerb dieser Fähigkeit ist ultrastrukturell nicht nachweisbar und histologisch nicht sichtbar (POURTOIS, 1968). Direkte morphologische Anzeichen für eine Fusionsbefähigung konnten in entsprechenden Epithelzellen noch nicht ermittelt werden.

Der im Anschluß an den initialen Kontakt erfolgende Vorgang der Anheftung der oberflächlichen Schichten zwischen beiden medialen Gaumenfaltenepithelien ist morphologisch und histochemisch noch nicht ausreichend aufgeklärt.

Als spezifische, zelluläre Kontakteinrichtungen, über die eine Haftung und ein stabiler Kontakt beider Epithelien erreichbar wären, müssen Desmosomen diskutiert werden. Die bisherigen Befunde betonen jedoch in der Mehrzahl das Fehlen von solchen Membranspezialisierungen zum Zeitpunkt der Anheftung (FARBMAN, 1968; SMILEY and KOCH, 1971). Das Vorhandensein von Desmosomen in dem Epithelverband ist auch nach der Etablierung eines festen Kontaktes nur vereinzelt beobachtet worden (Angaben darüber bei FARBMAN, 1968; DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968; HAYWARD, 1969; SMILEY and KOCH, 1971; MATO et al., 1972). Der späte Zeitpunkt ihres Auftretens und ihre geringe Anzahl (HAYWARD, 1969) lassen vermuten, daß Desmosomen erst sekundär an den Fusionsstellen auftreten (FARBMAN, 1969) und beim initialen Kontakt ohne Bedeutung sind.

Einige Untersucher weisen auf Mikrovilli hin, die an der dem Lumen zugewandten Seite der Peridermzellen während der Präfusionszeit auftreten (DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968; HAYWARD, 1969). SMILEY and KOCH (1971) berichten sogar von einer Interdigitation von Mikrovilli während des epithelialen Kontaktes im Fusionsbereich bei in-vitro-Kulturen. Eine Anheftung beider Epithelien könnte außerdem über extrazelluläre Klebesubstanzen erfolgen:

Das Vorhandensein eines besonderen, extrazellulären, adhäsiven Oberflächenbelages in diesen Bereichen wird vermutet (FARBMAN, 1968; HAYWARD, 1969). Sein optischer Nachweis ist erst in jüngster Zeit gelungen (GREENE and KOCHHAR, 1974; SOUCHON, 1975). MATO et al. (1972) sahen zwar ein flockiges und teilweise filamentäres Material zwischen

den Membranen der gegenüberliegenden Epithelzellen und ein mit Tannin anfärbbares, interzelluläres Material kurz vor dem epithelialen Kontakt, aber es besteht noch keine Klarheit über die Natur dieses Materials und dessen Bedeutung (WATERMAN et al., 1973).

Für elektronenmikroskopische Untersuchungen von adhäsiven Zelloberflächen bot sich eine von LUFT (1971, a und b) angegebene Methode an, bei der Rutheniumrot (RR) und das die Rutheniumrot-Reaktion verstärkende Osmiumtetroxyd verwendet werden. Rutheniumrot ist ein organischer Farbstoff, der als ionischer Komplex von Ruthenium-Atomen und Ammoniak gebunden über Sauerstoffbrücken vorliegt. Er tritt in eine recht spezifische, ionische Wechselbeziehung mit Polyanionen wie den Glykosaminoglykanen. Dagegen ergeben neutrale Polysaccharide, neutrale Polypeptide und verschiedene Proteine keine Färbereaktionen mit Rutheniumrot.

Da Rutheniumrot im allgemeinen bei unbeschädigter Plasmamembran nicht durch die Plasmamembran in das Zellinnere penetrieren kann (Ausnahmen siehe LUFT, 1971, b), wird eine gute und recht spezifische Aussage über die Morphologie von obligaten Bestandteilen der Zellbegrenzungsstrukturen durch die RR-Methode ermöglicht. Es gelingt also, entsprechend reagierende Substanzen im Oberflächenbelag der Zellmembran (als "surface coat") und im interzellulären Raum nachzuweisen (RAMBOURG et al., 1966; RAMBOURG, 1971; MERKER und GÜNTHER, 1973; SCHWARZ, 1973, 1974; SEINSCH, 1975).

Diese Methode soll bei den eigenen Untersuchungen angewandt werden um zu versuchen, damit folgende Fragen zu beantworten:

- 1) Welcher Art sind die zellulären Kontakteinrichtungen der oberflächlichen Zellen im Fusionsbereich der beiden Gaumenfaltenabschnitte?
- 2) Läßt sich eine Beteiligung extrazellulärer Substanzen als Oberflächenbelag nachweisen?
- 3) Ändert sich dessen Quantität im Laufe der für den Gaumenschluß wichtigen Entwicklungsphasen?

Zu 3. Mit dem sicheren Anhaften der medialen Gaumenfal-
tenepithelien erfahren diese morphologisch erfaßbare Ver-
änderungen:

- a) Es kommt zu einer Abnahme der Breite des epithelialen
Fusionssaumes. Über die Schichtdicke des Epithels un-
mittelbar vor der Fusion gibt es unterschiedliche An-
gaben (POURTOIS, 1968; HAYWARD, 1969; SMILEY and
KOCH, 1971; u.a.).
- b) Synchron mit der Verkleinerung des epithelialen Sau-
mes kommt es zu einer keilförmigen Anhäufung von Epi-
thelzellen am superioren und inferioren Ende der Fu-
sionsnaht (HAYWARD, 1969; SMILEY, 1970), so daß die
von den abgerundeten Gaumenfalten durch den Fusions-
vorgang entstehenden Einkerbungen im Niveau voll aus-
geglichen werden (SMILEY, 1970).
- c) Es kommt zu einer vollständigen Auflösung der Gaumen-
epithelzellen des Fusionsbereiches einschließlich
ihrer Basalmembranen (FARBMAN, 1968; u.a.).

Diese Alterationen sind von großem Interesse, da sie mor-
phologischer Ausdruck für das Phänomen des "physiologischen
Zelltodes" sind (GLÜCKSMANN, 1951; SAUNDERS, 1966; ANGELICI
and POURTOIS, 1968; HAYWARD, 1969; SHAPIRO and SWENEY, 1969;
MATO et al., 1966; SMILEY and KOCH, 1972; HUDSON and SHAPI-
RO, 1973; WATERMAN and MELLER, 1974).

Bereits vor dem Kontakt beider Gaumenfalten wurden sowohl
in den basalen, als auch in den peridermalen Epithelschich-
ten Nekrosen in vivo und in vitro beobachtet (ANGELICI and
POURTOIS, 1968; DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968; SMILEY and
DIXON, 1968; MATO et al., 1972). Viele Untersucher stellen
diesen Befund in Zusammenhang mit dem "Verdünnungsvorgang"
(a) des Fusionssaumes.

Die bereits vor dem tatsächlichen Kontakt auftretenden epi-
thelialen Nekrosen und die vollständige Auflösung des Epi-
thelsaumes scheinen nach Ansicht einiger Untersucher in en-
gem Kausalzusammenhang zu stehen, dennoch sollte nach IDOYA
-VARGAS et al. (1972) der vollständigen Epithelauflösung in-

sofern eine Eigenständigkeit zuerkannt werden, als daß hierfür noch ein neues, zusätzliches Auslösemoment hinzutreten muß. Über diesen weiteren Faktor gibt es bisher nur die Vermutung, daß es physikalischer Kontakt sei - unabhängig, ob er mit epithelialen Zellen, MILLIPORE-Filtern oder Zellen anderer Gewebearten erreicht wird (MILLER and SHAPIRO, 1968). SMILEY and KOCH (1972) teilen diese Ansicht nicht, wenn sie feststellen, daß ein zellulärer Kontakt zwischen den Gaumenfalten keine Voraussetzung für eine Disruption des Epithelsaumes sei. ANGELICI and POURTOIS (1968) kommen aufgrund ihrer Untersuchungen zu der Ansicht, daß Auflösungsvorgänge nicht notwendigerweise vom tatsächlichen Kontakt beider Gaumenfalten miteinander abhängen, sondern daß sie als notwendige Konsequenz der Differenzierung der Fusionsepithelien anzusehen sind.

Indikator autolytischer Vorgänge in den Epithelzellen sind die elektronendichten, membranumgrenzten degenerativen Einschlüßkörper (sog. "degenerative bodies", "degenerative granula"), die sich FEULGEN-positiv (SWENEY and SHAPIRO, 1970) und saure Phosphatase-positiv (ANGELICI and POURTOIS, 1968) verhalten. Diese Körper werden aufgrund ihrer Morphologie als autophagische Vakuolen bzw. Cytolysosomen angesehen (SMILEY and DIXON, 1966, 1968; SWENEY and SHAPIRO, 1970; SMILEY and KOCH, 1971, 1972; MATO et al., 1972). Diese als morphologisches Korrelat des Zelltodes angesehenen Cytolysosomen wurden unterschiedlich vor der Faltenfusion (MATO et al., 1966; SMILEY, 1970) oder erst nach ihrem Eintritt gesehen (FARBMAN, 1968; DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968; SWENEY and SHAPIRO, 1970). Aus diesen unterschiedlichen Befunden erklärt sich auch die umstrittene Frage nach der Fusion als auslösendem Moment für die Epithellysis.

Neben den solche Einschlüßkörper aufweisenden Zellen kommen nach FARBMAN (1968) auch morphologisch unauffällige Epithelzellen vor, die einen Großteil der Beseitigungsarbeit übernehmen, indem sie ihre degenerierten Nachbarzel-

len bzw. deren Trümmer phagocytieren und lysosomal abbauen.

Im Bereich der Nasooralkavität tritt der über Nekrotisierungsvorgänge ablaufende, notwendige Abbau von Epithelien mit nachfolgendem mesenchymalem Ersatz nicht nur bei der Fusion beider Gaumenfalten miteinander auf, sondern ist normaler Bestandteil der Verschmelzung von Gaumenfalten mit dem Nasalseptum, von medialem und lateralem Nasenwulst sowie beim Einreißen der membrana bucconasalis (MATO et al., 1966; WENDLER, 1972).

Die in vielen embryonalen Systemen nachgewiesenen, zur Normogenese gehörenden Gewebs- und Zelluntergänge (WENDLER, 1972, mit Zusammenfassung der Literatur über das Vorkommen von embryo-fetalen Nekrosen) wurden von SCHWEICHEL und MERKER (1973) morphologisch vergleichend untersucht und nach morphologischen und zeitlich-funktionalen Gesichtspunkten klassifiziert. Sie unterscheiden drei Typen von Nekrosen, die kurz aufgezählt werden sollen, da hierdurch eine Zuordnung der hier zu untersuchenden Gaumenfaltenepithelzell-Nekrosen zu den einzelnen Nekroseformen erleichtert wird:

Typ I: Der erste Nekrosetyp ist gekennzeichnet durch eine Kern- und Plasmakondensation sowie einer mit Auflösung der Polysomen einhergehenden Verformung und anschließender Fragmentierung der Zelle, deren Reste von Nachbarzellen phagocytiert und sekundär lysosomal abgebaut werden.

Typ II: Der zweite Nekrosetyp ist charakterisiert durch das Auftreten membranumgrenzter autophagischer Vakuolen im Cytoplasma degenerierender Zellen. In diese Vakuolen ergießen sich hydrolytische Enzyme, die den sog. primären Lysosomen entstammen. Nach Auflösung des Vakuoleninhaltes und Einreißen der Vakuolenmembran zerfällt die Zelle, deren Reste von Nachbarzellen phagocytiert und lysosomal abgebaut werden.

Typ III: Der dritte Nekrosetyp ist durch eine Fragmentierung der gesamten Zelle in optisch nicht mehr

nachzuweisende, molekulare Bruchstücke gekennzeichnet. Eine Beteiligung des lysosomalen Systems der zugrundegehenden oder der benachbarten Zellen findet nicht statt.

Die Beobachtung epithelialer Alterationen und Nekrosen im medialen Gaumenfaltenepithel vor dessen Kontakt mit der Gegenseite hat neben der Frage nach der Notwendigkeit physikalischen Kontakts als auslösendem Moment für das Einsetzen degenerativer Vorgänge einige Untersucher veranlaßt, spezifische Interaktionsformen zwischen Gaumenfaltenepithel und -mesenchym zu diskutieren (SHAPIRO and SWENEY, 1969; FARBMAN, 1969; POURTOIS, 1968; HUDSON and SHAPIRO, 1973). Die ätiogenetischen und formalen Mechanismen der vermuteten Interaktion, die beispielsweise dem Mesenchym eine induktive Wirkung auf das Fusionsepithel zuerkennt (POURTOIS, 1968), sind dabei noch unerkannt. Direkte morphologische Hinweise hierfür sind umstritten, jedoch wird vermutet, daß die Basalmembran als Grenzorgan zwischen Epithel und Mesenchym in solche Vorgänge maßgeblich miteinbezogen sei (SHAPIRO and SWENEY, 1969; SMILEY and DIXON, 1968; FARBMAN, 1968, 1969; POURTOIS, 1968). Aus diesem Grunde konzentrieren sich die morphologischen Untersuchungen auf die Basalmembran und deren Veränderung während des Fusionsvorganges, bei dem ihr Einreißen und Verschwinden notwendig für die definitive Fusion des Gaumenfaltenmesenchyms ist. Besonderer Wert wurde dabei auf den Zeitpunkt und die Reihenfolge der Alterationen der Basalmembran in Korrelation zu degenerativen Veränderungen des darüberliegenden Epithels gelegt (FARBMAN, 1968; SMILEY and KOCH, 1971), um somit Aufschluß über die stoffwechselmäßige Abhängigkeit der Basalmembran vom Epithel bzw. Mesenchym zu bekommen.

Die eigenen Untersuchungen sollen der Überprüfung bisheriger elektronenmikroskopischer Befunde von epithelialen Degenerationen und ihrer zeitlichen Beziehung zu Basalmembranveränderungen im Gaumenfaltenfusionsgebiet dienen.

Material und Methoden

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an Mäuseembryonen primiparer NMRI-Mäuse durchgeführt. - Um Angaben über den genauen Konzeptionszeitpunkt und darauf bezogen über das jeweilige Alter der Embryonen machen zu können, wurden den Tieren im Östrus nur für wenige Minuten (von 8.00 - 8.30 Uhr) Böcke zugesetzt. Die der Konzeption folgenden 24 Stunden entsprechen dem Tag 0, der am nächsten Tag um 8.00 Uhr beendet ist.

Für die photographisch sofort festgehaltenen makroskopischen sowie für die lichtmikroskopisch zu beurteilenden histologischen und die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden die Mäuseembryonen zwischen Tag 13 + 7 Std. p.c. bis Tag 15 + 2 Std. p.c. nach Tötung der Muttertiere schnittentbunden.

a) Makroskopie:

Mäuseembryonen, die makroskopisch direkt und anhand von Photoaufnahmen beurteilt werden sollen, wurden nach ihrer Schnittentbindung decapitiert. Zur besseren Lagerung für die Photoaufnahmen wurde ein Schnitt parallel zum Oberkiefer oberhalb der Augen gelegt. Um eine Beurteilung der nasooralen Höhle mit den sich darin entwickelnden Gaumenfalten und deren Verschmelzung zu ermöglichen, wurde ein weiterer, parallel zu Ober- und Unterkiefer in anterior-posteriorer Richtung verlaufender Schnitt gelegt, durch den die beiden Kiefer voneinander getrennt wurden. In einigen Fällen wurden nur Teile des Unterkiefers herauspräpariert, um so die Lage der Zunge zwischen den zu diesem Zeitpunkt noch vertikal herabhängenden Gaumenfalten aufzeigen zu können. Nach Anfertigen dieser Schnitte wurden die Präparate für 5 - 15 Minuten in einer modifizierten KARNOVSKY - Lösung (3% destilliertes Glutaraldehyd und 3% Paraformaldehyd in 0,1 m Cacodylatpuffer pH 7,2) fixiert.

Daran anschließend wurden die Präparate, bei denen die Gaumenfalten noch nicht miteinander verschmolzen

waren, photographiert (Aufnahmegerät: TESSOVAR; automatische Belichtungszeit; Objektive 4,0 , 5,0 und 6,4; Film: AGFA ISOPAN IF 17 DIN). Zur Kontrastverschärfung und besseren Konturenzeichnung wurden dieselben Präparate anschließend für 5 - 10 Minuten in Nilblausulfat - Lösung (Verdünnung 1 : 40 000) bei 37° inkubiert, mit Ringer - Lösung abgespült und erneut photographiert. Präparate, in denen der Gaumenschluß gerade erfolgt war, wurden zur Darstellung der nekrotisierten Gaumenfalten-Fusionsepithelien (Nekroselinie) ebenfalls für 30 Minuten in Nilblausulfat - Lösung gelegt, bei 37° inkubiert, mit Ringer - Lösung abgespült und zur postvitalen Darstellung nicht fixierter, bereits abgestorbener Gewebe photographiert.

b) Histologie:

Für die histologischen Untersuchungen wurden die abgetrennten Köpfe der Mäuseembryonen in BOUIN - Lösung (Gemisch von 80% alkoholischer Pikrinsäure, Formol und Eisessig) fixiert, in der von 90% an aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und in Paraffin eingebettet. Es folgte die Anfertigung serienmäßiger Quer- und Längsschnitte, die mit Azan und Hämatoxylin-Eosin angefärbt wurden.

c) Elektronenmikroskopie:

Die für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen verwendeten Köpfe der Mäuseembryonen wurden umgehend in der o.a. modifizierten KARNOVSKY - Lösung fixiert, in physiologischer NaCl-Lösung gewaschen, für ca. 2 Stunden in einem Gemisch von Rutheniumrot, 2% Osmiumtetroxyd und Cacodylatpuffer (0,080 g Rutheniumrot in 100 ml 1m Cacodylatpuffer gemischt im Verhältnis 1 : 1 mit 4% Osmiumtetraoxyd) nachfixiert, erneut in physiologischer NaCl-Lösung gewaschen, in der aufsteigenden Acetonreihe dehydriert und in Micropal eingebettet. Nach Aussägen und Zuspitzen der Präparate wurden Dünnschnitte an LKB- und REICHERT - Ultratomen hergestellt, mit Uranylacetat und REY-

NOLDS-Blei kontrastiert und mit dem ELMISKOP
SIEMENS I A untersucht und photographiert (Strahlenspannung 80 kV; 2 000 - 40 000fache Primärvergrößerung; Blende 100/50 u). Zur Orientierung und Kontrolle von Lage und Schnittführung wurden Semidickschnitte (ca. 0,5 - 1 μ Dicke) angefertigt, auf Objektträger aufgezogen, in 1% alkoholischer GIEMSA - Lösung mit Boraxzusatz angefärbt und lichtmikroskopisch beurteilt.

Befunde

1. Makroskopische Befunde:

Der Vorgang der Palatogenese vollzieht sich als Bestandteil der "früh-fetalen Entwicklung" (v. KREY-BIG, 1968), in der sich auch die übrige Gesichtsregion ausdifferenziert. Bei den verwendeten NMRI-Mäuseembryonen (ME) erstrecken sich die Entwicklung, Aufrichtung und Verschmelzung der Gaumenfalten vom Tag 13 p.c. bis zum frühen Tag 15 p.c..

Zu Beginn der Untersuchungsperiode - Tag 13 + 7 Std. p.c. - ist die Nasooralkavität gut ausgebildet. Sie wird lateral begrenzt durch die sich entwickelnden Maxillar- bzw. Mandibularbögen. Die anteriore und anterio-superiore Begrenzung wird vom Medionasalfortsatz, die superiore vom Dach des primären Gaumens gebildet. Bei Kieferöffnung und Blick von ventral-caudal in die Nasooralkavität scheint diese in den einsehbaren Bereichen völlig von der Zunge ausgefüllt zu sein. Lateral wird die Zunge von den paarigen Gaumenfalten umgeben, die sich in ihrer gesamten Länge als zunächst gleichmäßig von lateral nach medial-ventral gerichtete Auswulstungen aus den Oberkieferwülsten entwickeln. Soweit von vorne einsehbar, schließen die Gaumenfalten in Form von etwa gleichdicken, seitlichen Polstern die Zunge zangenförmig zwischen sich ein. Nach Herunterziehen bzw. Herauspräparieren der Zunge und Abtrennen des Unterkiefers stellt sich die primäre Nasenmundhöhle als rechteckig begrenzter Raum dar, in dem die anteriore kürzere Seite leicht bogenförmig in die seitlichen Auswulstungen der sich entwickelnden Gaumenfalten übergeht (Abb. 1 a).

Zu Zeitpunkten unmittelbar vor der Gaumenfaltentransposition - Tag 14 p.c. früh - sind die Falten im hinteren Bereich der Nasooralkavität nicht mehr zu sehen, da sie von der unter ihnen liegenden, breiten Zunge verdeckt werden (Abb. 1 b). Erst beim Herunterziehen

der Zunge werden auch die hinten gelegenen Gaumenfal-
tenanteile sichtbar, die offenbar zu diesem Zeitpunkt
dorso-vertikal bzw. semivertikal über der Zunge liegen.
Im anterioren Bereich hängen die Gaumenfalten nicht
ganz vertikal, sondern leicht nach medial, im posteri-
oren nach lateral gerichtet. In der Aufsicht scheinen
sie daher wellenförmig zu verlaufen und die Nasooral-
kavität taillenförmig seitlich zu begrenzen (Abb. 1 c).

Dieses wellenförmige Bild wird mit dem Einsetzen der
Transposition betonter. Der Umlagerungsprozeß erfolgt
in postero-anteriorer Richtung, sichtbar an einem me-
dialen Vorbauchen der Gaumenfalten, das in den hinteren
Gaumenfaltenabschnitten einsetzt und sich successiv ro-
stralwärts fortsätzt. Die Falten kommen schließlich in
eine medialwärts gerichtete, transversale Position zwis-
schen dem Dach des primären Gaumens und der Zunge. Die
volle horizontale Position wird dabei zuerst von den
anterioren Dritteln der Gaumenfalten erreicht, die rest-
lichen folgen rasch. Dieser wellenförmige Positionswech-
sel kann festgehalten werden anhand von Serienphotogra-
phien, die - jeweils in kurzen zeitlichen Abständen an-
gefertigt - diese Entwicklungsvorgänge in kleine Inter-
valle zerlegen.

Entsprechend ihrer Ausgangslage zur Zunge vollziehen die
anterioren Gaumenfaltenabschnitte eine in ihrem Bewe-
gungsausmaß stärkere Umlagerung als die posterioren. -

Die Gaumenfalten sind in ihren anterioren Anteilen schmal
mit abgerundeten inferioren, durch die Transposition
nach medial kommenden Rändern, posterior werden sie dik-
ker und plumper.

Die sich wellenförmig in zeitlicher Abstufung für die
jeweiligen Gaumenfaltenabschnitte vollziehende Lagever-
änderung erfolgt üblicherweise nicht parallel in beiden
Gaumenfalten. In der Aufsicht erscheint die Nasooralka-
vität zu diesem Zeitpunkt aufgrund der Horizontalisie-
rung der einen Gaumenfalte und dem noch vertikalen Ver-
bleiben der anderen unregelmäßig seitlich begrenzt und

asymmetrisch.

Die Horizontalisierung der anderen Gaumenfalte erfolgt erfahrungsgemäß spätestens nach 3 Stunden. Nach erfolgter beidseitiger Faltenaufrichtung besteht zunächst ein etwa X-förmiger Spalt zwischen den Gaumenfalten, dessen Isthmus zwischen dem anterioren ersten und zweiten Drittel der Falten liegt. Anterior hat dieser Spalt in der Aufsicht das Aussehen eines gleichschenkligen Dreiecks mit geschwungen verlaufender Basis, die von der anterioren Begrenzung des primären Gaumens gebildet wird. Posterior ist der Spalt rhombenförmig (Abb. 1 f). Zu diesem Zeitpunkt können im anterioren und mittleren Abschnitt der Gaumenfalten bereits deutlich die transversal zur Gaumenfaltenlängsachse angeordneten *plicae palatinae transversae* beobachtet werden. Ihre Zahl steigt im weiteren Verlauf des Gaumenschlusses auf 6 - 7 an.

Durch ein wulstartiges, medialwärts gerichtetes Wachstum der horizontalisierten Gaumenfalten kommt es zu einem Zustand der Anlagerung (Abb. 1 d,g) und schließlich zur Fusion beider miteinander (Abb. 1 e,h). Dieser Vorgang vollzieht sich initial - im Gegensatz zum Umlagerungsprozeß der Gaumenfalten - im Bereich zwischen anteriorem ersten und zweiten Drittel der Gaumenfalten etwa in Höhe der 3. - 5. *plica palatina transversa* (Abb. 1 d) und setzt sich dann reißverschußartig nach anterior und posterior fort, wobei die fusionsbedingt jetzt getrennten Spalträume anterior und posterior immer spitzwinkliger werden. Der Fusionsbereich beider Gaumenfalten ist als kerbige mediale Längsachse des sekundären harten Gaumens zu erkennen. Ebenso wie die *plicae palatinae transversae* ist die Fusionslinie in der Supravitalfärbung mit Nilblausulfat als deutlich kontrastierte Naht zu erkennen (Abb. 1 h). Der beschriebene Fusionsvorgang beider Gaumenfalten vollzieht sich etwa zwischen Tag 14 + 7 Std. p.c. und Tag 14 + 12 Std. p.c..

Nach nahezu vollständiger Verschmelzung der Gaumenfalten

entlang ihrer Längsachse kommt es zur Fusion der anterioren Gaumenfaltenabschnitte mit dem anterioren Abschnitt des Nasalseptums sowie mit dem primären Gaumen. Zu diesem Zeitpunkt ist am posterioren Ende der Fusionsvorgang noch nicht abgeschlossen, und im Bereich des Übergangs vom harten zum weichen Gaumen besteht noch ein kleiner rhombenförmiger Spalt (etwa Tag 14 + 12 Std. p.c. bis Tag 14 + 18 Std. p.c.). Eine Fusion ist in diesem Abschnitt erst zu Zeitpunkten zu sehen, an denen sich die epitheliale Fusionsnaht im Bereich des harten Gaumens wieder auflöst und makroskopisch nur noch schwach erfaßt werden kann (etwa Tag 15 + 0 Std. p.c.) (Abb. 1 e,h). -

Diese eben beschriebenen Vorgänge vollziehen sich bei einzelnen Mäuseembryonen zu verschiedenen Zeiten. Obwohl die Verpaarungszeit entsprechend den verwendeten Paarungsbedingungen relativ kurz gehalten wurde (1/2 Stunde), ergab die Durchsicht mehrerer Serien von NMRI-Mäuseembryonen in ihrem Ausmaß zunächst unerwartete Unterschiede in den Zeitpunkten der Gaumenfaltenaufrichtung und -schließung bei einzelnen, chronologisch gleichhaltigen ME eines Uterus und bei denen von verschiedenen Serien. Chronologisch gleichaltrige Embryonen weisen in ihrer Morphogenese Schwankungen bzw. Normalvariationen auf, so daß man bei der Beurteilung des Entwicklungsstadiums eines Wurfes zu einem festgesetzten Zeitpunkt nur von jeweils vorherrschenden Entwicklungsstadien sprechen kann. Die zeitliche Begrenzung der innerhalb einer willkürlich als Normalvariation angesehenen Entwicklungsverschiebung bei der Palatogenese von NMRI-ME eines Uterus wird auf 2 Stunden geschätzt, die von mehreren Tieren weist sogar eine noch größere zeitliche Breite auf. Beim Vergleich serienspezifischer Unterschiede wird schließlich eine Entwicklungsverschiebung von 10 - 15 Stunden geschätzt, was bei der durchschnittlichen Gestationsdauer von 19 Tagen für NMRI-ME einer Schwankungsbreite von 3 - 5% der gesamten Gestationszeit entspricht. Beispielsweise

konnte das einseitige Aufrichten einer Gaumenfalte schon zum Zeitpunkt Tag 14 + 2 Std. p.c., aber auch erst zum Zeitpunkt Tag 14 + 10 Std. p.c. beobachtet werden. Auf eine statistische Analyse zur Errechnung von Standard-Normalkurven und Wahrscheinlichkeiten im Erreichen bestimmter morphogenetischer Entwicklungsstadien wurde deshalb verzichtet. Solche Werte lassen sich nur mit riesigem Tiermaterial statistisch absichern. Unter Berücksichtigung der Entwicklungsschwankungen chronologisch gleichaltriger ME wird deshalb bei der Beschreibung der Morphogenese des sekundären harten Gaumens auf eine chronologische Zuordnung kein Wert gelegt, sondern nur morphologische Entwicklungsreihen berücksichtigt.

2. Lichtmikroskopische Befunde:

Bei der histologischen Untersuchung der frontalen Serienschnitte durch den Kopf der Mäuseembryonen wurden die Gaumenfalten bevorzugt nach möglichen Veränderungen im Bereich der Abschnitte beurteilt, die mutmaßlich in den Vorgang der Adhäsion und Fusion miteinbezogen werden.

a) vertikal_herabhängende_Gaumenfalten:

Zu einem frühen Zeitpunkt - Tag 13 + 7 Std. p.c. - sind die Gaumenfalten anterior (rostral) in Höhe der Unterkieferspitze zunächst als zarte, wulstige Vorwölbungen aus den Oberkieferwülsten zu erkennen. In antero-posteriorer Richtung werden die Falten als mandibularwärts gerichtete, das Niveau des Oberkieferwulstes verlassende, eigenständige Gewebvorsprünge zunehmend deutlich erkennbar. Dabei imponieren sie im Frontalschnitt als seitliche Verlängerungen des bogenförmig die Zunge überspannenden Nasooralhöhlendaches. Anterior allerdings wächst von cranial (superior) nach caudal das Nasalseptum kolbenförmig auf die Zunge zu und kann

mit ihr in Kontakt kommen, so daß hier eine symmetrische, sagittale Unterkammerung der Nasenmundhöhle erreicht wird.

Im Querschnitt haben die Gaumenfalten anterior eine schmale, flache, zapfenförmig sich zu ihrer Spitze hin verjüngende, längliche Form (Abb. 2 a), werden in den mittleren Abschnitten breitbasig, dicker und plumper mit weitbogig abgerundetem inferiorem und lateralem Gaumenfaltenrand (Abb. 2 b). Posterior haben sie ihr zapfenförmiges Aussehen verloren, sie sind breiter, plumper und eckiger mit breitem inferiorem Rand (Abb. 2 c) und gehen schließlich am hintersten Abschnitt in den Oberkieferwulst über (Abb. 2 d). Medialer und inferior-lateraler Gaumenfaltenrand verlaufen anterior spitzwinklig, in Gaumenfaltenmitte fast rechtwinklig und posterior nahezu parallel zueinander.

Das Mesenchym der Gaumenfalten ist anterior dicht und ungeordnet, in Gaumenfaltenmitte aufgelockert. In diesem Bereich läßt sich in einigen Präparaten eine palisadenförmige Ausrichtung der mesenchymalen Zellen entlang dem Epithelverband beobachten. Die posterioren Abschnitte weisen eine gering zunehmende Dichte des ungeordneten Mesenchyms auf.

Das Gaumenfaltenepithel ist in den vordersten Abschnitten mehrschichtig und dicht gedrängt. In den mittleren Abschnitten ist es weniger stark zusammengedrängt, zweischichtig und besteht aus einer kubischen Basal- und einer flachen, mehrere Zellen überspannenden Peridermzellschicht. Die posterioren Faltenabschnitte sind relativ gleichmäßig von einem dichtgedrängten, überwiegend zweischichtigen Epithel überzogen. Zwischen den basalen Epithelzellen sind Interzellularräume erkennbar. Die basalen Zellen haben überwiegend ovale Kerne und zeigen mitotische Bilder. In den Peridermzellen sind die Zellkerne länglich gestreckt, sie zeigen keine Mitosen. Am inferioren Gaumenfaltenrand sowie an den lateralen, knickartigen Übergangsstellen von den Gaumenfalten zum Maxillarebereich geht das zweischichtige Epithel in ein mehrschichtiges über.

Die Nasooralkavität hat anterior in Höhe des Nasalseptums eine schmale, hohe Form und erreicht hier ihre größten Ausmaße. Zur Mitte zu wird sie schmaler und flacher, po-

sterior kleiner und breiter als höher. Die Zunge liegt anterior in rechteckiger Form höher als breiter und mit horizontal verlaufendem, zu den Seiten hin abgerundetem Zungenrücken in der Nasenmundhöhle (Abb. 2 a). In Mundhöhlenmitte ist sie in den von Gaumenfalten und Naso-orallhöhlendach hufeisenförmig umschlossenen Anteilen breiter als an ihrer Basis, wobei sich der Zungenrücken breitflächig mit geringer, breitbogiger Krümmung der Nasenmundhöhle anpaßt (Abb. 2 b). Posterior liegt die Zunge breitbasig dem Unterkiefer auf und weist eine abgerundete, breite und flache Form auf (Abb. 2 c,d). In dieser Entwicklungsphase verlaufen die Längsachsen der Gaumenfalten anterior medial-ventral, posterior nahezu vertikal und parallel zueinander.

Zu späteren Zeitpunkten unmittelbar vor der Umlagerung ändert sich die Form der größer werdenden Gaumenfalten nur wenig. Allerdings kommt es zu einem starken Breitenwachstum der posterioren Anteile der Zunge, so daß sich die Position der Gaumenfalten zur Zunge verändert. Während anterior die Gaumenfalten die Zunge zangenförmig umfassen und seitlich zu verkeilen scheinen - sichtbar an den durch sie verursachten Impressionen an den Seiten der Zunge -, hängen sie in Mundhöhlenmitte annähernd vertikal herab und verlaufen senkrecht zur Breitenachse der Zunge, deren Seiten sie weitflächig begrenzen. Nach hinten zu sind die Gaumenfalten der hier stärker gekrümmten Zunge dorsolateral angelagert. Die Gaumenfaltenlängsachsen, die anterior stark medial-ventral, in den mittleren Gaumenfaltenbereichen annähernd parallel zueinander verlaufen, stehen jetzt im hinteren Gaumenbereich giebelförmig zueinander.

b) Phase der Gaumenfaltenumlagerung:

Diese Phase ist durch eine erhebliche Asymmetrie der Nasooralkavität aufgrund des Asynchronismus in der Positionsänderung der Gaumenfalten gekennzeichnet. Auf der Seite, auf der die Umlagerung einer Gaumenfalte beginnt, kommt es zur Verdickung bei gleichzeitiger Verkürzung

der Falte sowie zu einer unregelmäßigen und uneinheitlichen Verformung der Zunge. Anterior erreicht die schmale Gaumenfalte zuerst eine "super"-horizontale Position mit leicht medial-cranial verlaufender Faltenlängsachse und liegt vollständig über der Zunge (Abb. 2 e). Zur Mitte der Nasenmundhöhle hin wird die Gaumenfalte dicker und scheint sich bogenförmig über die hier deutlich schräger als anterior liegende Zunge schieben zu wollen. Zwar liegt der Hauptteil der Gaumenfalte oberhalb des abgekippten Zungenrückens, eine ausreichende horizontale Position ist aber noch nicht eingetreten (Abb. 2 f,g). Die Gaumenfaltenlängsachse verläuft hier stärker medial-cranial als anterior. Posterior ist die Gaumenfalte zu diesem Zeitpunkt nur schwer als eigenständiger Gewebsvorsprung auszumachen. In plumper Form liegt sie in cranialer Ausrichtung dorsolateral über der Zunge, deren sich aufrichtende Gaumenfalte zugewandte Seite steil nach caudal abkippt. Die Gaumenfaltenlängsachse verläuft hier cranial-medial (Abb. 2 h).

Insgesamt sind die plastischen Veränderungen der Gaumenfalte stark variierend, je nachdem, wie weit sich der Hauptteil der Gaumenfalte an der Zunge "vorbeigeschoben" hat bzw. wie stark die Zungenseite abgekippt ist. Hierbei sind die Verformungen der Gaumenfalte und der Zunge im mittleren Nasenmundhöhlenbereich am stärksten ausgeprägt. Solange nur eine Gaumenfalte oberhalb der Zunge in einer mehr oder weniger horizontalen Position liegt, bleibt die Zunge zur Seite dieser Gaumenfalte hin gekippt. Bei beidseitig horizontalisierten Gaumenfalten liegt die Zunge breitbasig, symmetrisch und flacher als vor der Faltenaufrichtung in der Nasenmundhöhle.

Das Gaumenfaltenmesenchym ist während dieser Entwicklungsstufe unterhalb des Epithels stellenweise dichter angeordnet als im übrigen Faltenbereich. Jeweils an den anterioren und posterioren Enden der Gaumenfalten ist es dichter als in Gaumenfaltenmitte. Eine exakte Angabe hierüber ist wegen der verformungsbedingten Staucheffek-

te der Gaumenfalte nur sehr schwer zu machen.

Das nach wie vor zweischichtige Gaumenfaltenepithel erscheint an den unmittelbar der Zunge anliegenden Bereichen gedehnter zu sein als an den freien Abschnitten über dem Zungenrücken. Nach Aufrichtung der Gaumenfalten ist ihr Epithel an den Knickstellen im Übergangsbereich vom jetzt nasalen Faltenbereich zur lateralen Nasenhöhlenbegrenzung mehrschichtig und dicht gedrängt. In den Abschnitten, in denen bei vertikal herabhängender Gaumenfalte an deren lateralem Übergangsbereich zur Maxilla hin ein durch Epithelanhäufung gekennzeichnete Knick vorhanden war, läßt sich nach Faltenaufrichtung und dadurch aufgelöstem Knick noch eine Epithelvermehrung nachweisen.

- c) horizontalisierte, noch nicht fusionierte Gaumenfalten: Die Gaumenfalten haben in dieser Phase eine horizontale Position zwischen Zunge und Nasalseptum erreicht. Das Bild der Nasooralkavität erscheint wieder symmetrisch. Die Gaumenfalten liegen einander gegenüber. Dabei ist eine gewöhnlich breiter und dicker als die andere. Je schmaler der Spalt zwischen den Gaumenfalten ist, desto geringer sind die Unterschiede zwischen den beiden Gaumenfalten, die an der Stelle ihrer größten Annäherung nahezu symmetrisch sind (Abb. 3 a,b; 4 a-e).

Die Position der Gaumenfalten in Bezug zum Nasalseptum verschiebt sich von anterior nach posterior. In den anterioren Abschnitten liegt das Nasalseptum in der Mitte zwischen den noch weit voneinander getrennten Gaumenfalten. Der abgerundete inferiore Rand, zum Teil aber auch nur rüsselförmige Epithelaggregationen (Abb. 4 a,b) des Nasalseptums liegen etwa in Höhe des oralen Gaumenfaltenrandes. Nach hinten zu liegt das breiter und eckiger werdende Nasalseptum immer weiter oberhalb von den Gaumenfalten. Es entsteht dadurch der Eindruck, als würden sich die horizontalen Gaumenfalten keilförmig zwischen Zunge und Nasalseptum schieben, und je stärker sie sich angenähert haben, desto höher sei das Nasalsep-

tum weggedrängt. An Stellen, an denen nur noch ein geringer, schmaler Spalt zwischen den Falten ist, ist das Nasalseptum von den nasalen Gaumenfaltenabschnitten durch einen Zwischenraum getrennt oder liegt diesen breitbasig auf (Abb. 4 f,g). Dabei können verschiedene Arten der Fusion des Nasenseptums mit den Gaumenfalten gesehen werden:

1. Gleichzeitige Fusion beider Gaumenfalten miteinander und mit dem Nasalseptum (Abb. 4 f,g),
2. Fusion beider Gaumenfalten miteinander mit nachfolgender Fusion der Gaumenfaltenplatte mit dem Nasalseptum (Abb. 3 c,d),
3. Fusion der getrennten Gaumenfalten mit dem Nasalseptum an zwei getrennten Stellen - gleichzeitig (Abb. 4 c,d) oder zeitlich versetzt (Abb. 2 f) - und anschließender Fusion beider Gaumenfalten miteinander.

Das Mesenchym der horizontalisierten Gaumenfalten ist einheitlich lockerer im Vergleich zu dem der vertikal herabhängenden Gaumenfalte. Im Bereich der medialen Gaumenfaltenspitze und im anterioren Faltenabschnitt sind die Dichteunterschiede im Mesenchym gegenüber anderen Abschnitten nur minimal. Das Epithel ist an der medialen Oberfläche der abgerundeten Gaumenfaltenspitze zwei- bis vierschichtig und besteht aus basalen kubischen und oberflächlichen länglichen Peridermzellen. An Stellen stärkster Krümmung ist das Epithel besonders dick und dicht gepackt. Das nasale Gaumenfaltenepithel ist einheitlich zweischichtig und besteht aus eher zylindrischen Basalzellen und einer Peridermschicht. Der größte Teil des oralen Gaumenfaltenepithels ist ebenfalls zweischichtig und besteht aus einer kubischen Basal- und einer sehr flachen Peridermzellschicht.

In anterior-posterioren Serienschnitten fallen besonders im vorderen Gaumenabschnitt in unregelmäßigen Abschnitten auftretende Verdickungen des oralen Faltenepithels auf. Das orale Epithel wird hier mehrschichtig. Diese Bereiche entsprechen den *plicae palatinae transversae*.

d) Fusion der Gaumenfalten:

Die Fusion der Gaumenfalten beginnt etwa in Höhe der 3. - 5. plica palatina transversa. Da die übrigen Gaumenfaltenabschnitte die Fusion successiv vollziehen, werden in den Serienschnitten jeweils unterschiedliche Stadien der epithelialen Fusion und des darauffolgenden mesenchymalen Ersatzes gesehen.

Anfänglich sind die abgerundeten medialen Gaumenfalten dicht aneinandergelagert. Aufgrund der Abrundungen der medialen Gaumenfalten weist die Gaumenplatte im Fusionsbereich am nasalen und oralen Rand Kerben auf. Mit Fortschreiten der Fusion werden diese, die Mittellinie bildenden Kerben geringer (Abb. 3 c,d) und allmählich dem übrigen Gaumenfaltenniveau wieder angeglichen, so daß die Gaumenplatte gleichmäßig dick ist. Dieser Niveaueausgleich kommt dabei durch eine dreieckige Anhäufung von Epithelzellen am oralen und nasalen Rand der Fusionslinie zustande. Die ursprünglich von vier Epithelzellschichten gebildete Fusionsnaht scheint in dem Maße dünner zu werden, in dem die Akkumulation epithelialer Zellen am Ober- und Unterrand des Fusionsbereiches zunimmt.

In den vorderen Mundhöhlenbereichen findet sich in der Mehrzahl der untersuchten Präparate eine analoge, auch etwa dreieckige Anhäufung epithelialer Zellen des inferioren Randes des Nasalseptums. Sie liegt in Höhe des Fusionssaumes beider Gaumenfalten der nasalen, vom Gaumenfaltenepithel gebildeten Zellaggregation gegenüber (Abb. 3 d, 4 e).

Die weitere Fusion ist gekennzeichnet durch eine allmähliche, ungleichmäßige Verdünnung und Auflockerung des epithelialen Fusionssaumes. Man sieht Aufrisse des Epithels, das zunehmend diskontinuierlicher wird, und strangförmig angeordnete Epithelzellinseln. Gelegentlich kommt es zu ungleichmäßig von epithelialen Zellen unvollständig umgrenzten Zysten im mittleren Bereich des Fusionssaumes. An die Stelle des Fusionsepithels tritt vermehrt mesenchymales Gewebe. Nur vereinzelt

lassen sich persistierende Epithelzellhaufen nachweisen. Das Mesenchym weist während der Fusion nur eine geringgradige Verdichtung entlang des Epithelsaumes auf. Die Mesenchymzellen weisen keine auffällige Ausrichtung auf, enthalten jedoch in der Nähe des Fusionsbereiches stärkere, körnelige Einschlüsse. Zum Abschluß des Fusionsvorganges sind keinerlei Epithelzellreste in der Gaumenmitte mehr sichtbar, das Mesenchym ist entlang der gesamten Gaumenplatte nahezu gleichmäßig verteilt.

3. Elektronenmikroskopische Befunde:

a) vertikal herabhängende Gaumenfalten:

Die vertikal herabhängenden Gaumenfalten sind von einem typischen zweischichtigen embryonalen Epithel umzogen: Einer kubischen Zellschicht liegt eine flache Peridermschicht auf. Dabei sind die basalen Zellen breitbasig über einer 300-400 Å dicken Basalmembran am Mesenchym verankert. Die Mesenchymzellen treten über schmale, cytopodienartige Zellausläufer nur gelegentlich und in weiten Abständen mit der Basalmembran in Kontakt. Die 300-400 Å dicke Basalmembran verläuft kontinuierlich und parallel zur basalen Zellmembran der breitbasigen Epithelzellen, folgt deren vereinzelt, unregelmäßig geformten Cytoplasmaausstülpungen ins Mesenchym hinein (Abb. 6 a) und überspannt die schmalen Interzellularräume zwischen den Basalzellen. Die basalen Epithelzellen sind streckenweise durch längliche, unterschiedlich weite Interzellularspalte voneinander getrennt oder liegen mit ihren Zellbegrenzungsstrukturen parallel zueinander. Über close contacts bzw. zonulae occludentes stehen sie miteinander in Verbindung. Die Basalzellen zeigen an manchen Stellen zart ausgebildete, fingerförmige, membranumgrenzte Cytoplasmavorsprünge, die schräg oder quer in die Interzellularräume vorspringen und an die benachbarten Epithelzellen heranziehen. Die Zellmembranen basaler und peridermaler Zellen verlaufen über weite Strecken parallel und sind durch einen schmalen Interzellularraum, der sich gelegentlich stärker aufweitet, getrennt. Cytoplasmatische Ver-

zahnungen kommen ebenfalls vor (Abb. 6 b).

Die Zellen der basalen Epithelschicht haben überwiegend große, ovaläre, hellere Kerne, an deren zumeist glattkonturierter Kernmembran sich chromatinreiches Material in wechselnder Dichte anlagert, so daß sie insgesamt eine stärkere Elektronendichte aufweist als die Zellmembran. Bei höherer Auflösung lassen sich die äußere und innere Kernmembran sowie der perinucleäre Raum deutlich erkennen. Die Kerne enthalten mehrere zentral oder randständig gelegene Nucleoli. Diese bestehen aus fleckförmig angeordneten, zusammengeballten Nucleusribosomen bzw. ihren Vorstufen, einer mehr homogenen Proteinmatrix und den mehr filamentären Chromosomenanteilen, die locker verteilt oder dichter zusammengelagert vorkommen.

Das Cytoplasma ist angefüllt mit freien Ribosomen und Polysomen. Regelmäßig finden sich neben einem zart ausgebildeten GOLGI-Apparat diffus verteilte, kleine, runde Mitochondrien vom Cristae-Typ sowie wenig schlauchförmiges, scharf konturiertes rauhes endoplasmatisches Retikulum. Auffallend sind großfleckige, nicht umgrenzte, inhomogene Areale, die ein grobkörniges bis granuläres Material enthalten (Abb. 6 a,b), das in Analogie zu entsprechenden bisher beschriebenen Befunden als Glycogengranula betrachtet werden könnte.

Die flachen peridermalen Zellen weisen länglich gestreckte Kerne auf. Ihre Cytoplasmavorsprünge überspannen sich überlappend zwei bis drei basale Zellen, so daß der Eindruck einer Mehrschichtigkeit des Periderms entstehen kann. Bezüglich ihrer Zellinhalte und deren Verteilungsdichte bestehen keine augenfälligen Unterschiede zu den Basalzellen, jedoch ist der Glycogengehalt der Oberflächenzellen geringer als der der darunterliegenden Zellen.

Dieses einheitliche und regelmäßige Bild des Gaumenfaltenepithels verändert sich zur Gaumenfaltenspitze hin und wird unruhiger (Abb. 5): Durch Verbreiterung geht der Charakter des Epithels als flache Deckschicht ver-

loren, der Epithelverband wird dreischichtig. Die Epithelzellen erscheinen dichter aneinandergedrängt, obwohl auch hier Interzellularräume, wenn auch in geringerer Anzahl und Ausdehnung, noch vorhanden sind. Benachbarte Zellen der Basalschicht weisen hier stärkere, mäanderförmige Verzahnungen auf. Die Kontaktzonen zeigen in diesem Faltenbereich dunklere Verdichtungszone unter den Zellmembranen. Ähnliche Verbindungen kommen, wenn auch in geringerer Anzahl, zwischen basalen und superficialen Zellen vor. Hier überwiegen die parallel verlaufenden Zellmembranabschnitte benachbarter Zellen. An der lumenwärtigen Oberfläche der peridermalen Zellen beginnen sich wenige stummelförmige Mikrovilli auszubilden.

Basale und superficiale Epithelzellen unterscheiden sich in geringem Maße in ihrer Elektronendichte voneinander. Dabei scheinen - unabhängig von den gleichbleibenden Hellichtigkeitsunterschieden zwischen Zellkern und Cytoplasma - superficiale Zellen im allgemeinen dunkler als basale (Abb. 5). Zudem kommt es in den dickeren und kürzeren cytoplasmatischen Ausläufern der Peridermzellen zu einer stärkeren Betonung der granulären Zellelemente, so daß diese Cytoplasmabereiche in Übersichtsbildern als elektronendichtes, homogenes Band unterhalb der lumenwärtigen Oberfläche erscheinen (Abb. 7 a,b).

Gegenüber dem übrigen Epithel sind die intrazellulären Veränderungen im Bereich der Faltenspitze geringfügig. Allerdings sind die zahlreichen Mitochondrien größer, und das endoplasmatische Retikulum ist stärker ausgebildet.

Deutliche Unterschiede sind dagegen bei Berücksichtigung des mit Rutheniumrot darstellbaren Oberflächenfilms zu beobachten. Hier findet sich im Bereich des Oberflächenepithels an der Spitze der noch vertikal herabhängenden Gaumenfalte ein durchschnittlich 300 Å dicker, kontinuierlicher elektronendichter Belag. Er sitzt der äußeren Lamelle der Zellmembran so dicht auf, daß eine Trennung im üblichen Vergrößerungsbereich nicht möglich ist. Zum Lumen der Mundhöhle hin besteht dagegen keine gut definierbare Grenze. Zahlreiche Rutheniumrot-positive, etwa

100-500 Å große Granula sitzen der kontinuierlichen Schicht auf oder lassen sich in einiger Entfernung von ihr nachweisen. Solche isolierten Einzelgranula, die aber auch in Gruppen oder Reihen vorkommen können, sind in vielen Fällen durch feine Fäden mit dem Oberflächenfilm verknüpft. Ähnlich zarte Fäden, die nicht dicker als 50 Å sind, können auch frei in Längen bis zu 400 Å von der Oberfläche in das Lumen ausstrahlen (Abb. 8 a-c).

Dieses Bild an der Faltenspitze ändert sich mit zunehmender Entfernung von ihr. Der kontinuierliche Rutheniumrot-positive Belag reißt stellenweise auf und wird dünner. Die Zahl der isolierten Granula und der feinen Fäden bleibt zunächst unverändert, nimmt dann aber auch ab. Bei den noch hängenden Falten verschwindet dieser Belag aber auch an der Basis nie völlig (Abb. 8 c).

b) Aufrichtungsphase der Gaumenfalten:

Während und nach der Aufrichtung der Gaumenfalten lassen sich im Bereich des Epithels keine tiefgreifenden morphologischen Veränderungen erkennen. An den Stellen, an denen die Gaumenfalten während ihrer Aufrichtungsphase an der Zunge vorbeigleiten, kommt es zu einem engen Kontakt der Gaumenfalten- und Zungenepithelien. Die Interzellularspalte zwischen beiden Epithelverbänden entsprechen denen zwischen Zellen eines Verbandes, so daß eine eindeutige Zuordnung der epithelialen Einzelzellen zu ihrem jeweiligen Epithelverband nicht mehr möglich ist (Abb. 9 c,d). Hier im Bereich der Berührungsflächen verschwindet der Rutheniumrot-positive Oberflächenbelag und ist über weite Strecken nicht mehr nachzuweisen (Abb. 9 d).

c) Präfusionsepithel:

Das Epithel der medialen, unmittelbar vor ihrer Fusion stehenden Gaumenfaltenabschnitte (Abb. 12) ist unverändert überwiegend dreischichtig, im Gegensatz zum Epithel der nasalen und oralen Abschnitte, das zweischichtig bleibt. Die Veränderungen zu den vorherigen Entwicklungsstadien sind gering, aber doch erkennbar. Die spezifischen Kontakte, close contacts, tight junctions sowie fingerförmige Verzah-

nungen, zwischen den einzelnen Zellen sind zahlreicher und ausgeprägter. Bereiche dichtgedrängter Epithelzellen mit nur vereinzelt Interzellularspalten wechseln mit solchen, bei denen zwischen Desmosomen und tight junctions weiträumige Interzellularspalten auftreten (Abb. 11 a,b). Die Helligkeitsunterschiede zwischen benachbarten Zellen werden in dieser Entwicklungsstufe ebenfalls beobachtet, sind aber nicht generalisiert anzutreffen (Abb. 11 b).

Die Zellkerne erscheinen plumper, und ihre Umgrenzung ist unregelmäßiger. Die Verdichtungszone im Karyoplasma sind in den superficialen Kernen feiner granuliert und teilweise girlandenförmig zusammengeballt.

Die Veränderungen im Cytoplasma betreffen im wesentlichen den Glycogengehalt und die Form der Zellorganellen. Die Mitochondrien sind jetzt größer, ovaler, und insbesondere in Längsschnitten ist ihre Cristaform gut auszumachen. Das Packungsmuster der elektronendichten Glycogenpartikel in den Basalzellen vergrößert sich. Ebenso haben die Ribosomen durch verstärkte Aggregation zu Polysomen ein mehr umschriebenes Aussehen. Die Anzahl der Mikrovilli bleibt etwa konstant, sie sind jedoch wesentlich länger.

Im Cytoplasma der superficialen Zellen treten vereinzelt membranumgrenzte, elektronendichte, vakuolige Gebilde von $0,2 \mu$ Durchmesser auf, in deren Innern 8 - 10 plaquesförmige, hellere polycyclische Einschlüsse sind. Diese hier erstmalig auftretenden cytoplasmatischen Körperchen lassen sich insbesondere in den Zellen nachweisen, in denen die Mitochondrien groß sind und die Ribosomen in Form von Polysomen überwiegen. Weiterhin enthält das Cytoplasma $300 \text{ \AA}$ große, vakuolige Strukturen, die eine Membranumgrenzung aufweisen und optisch leer sind (Abb. 11 a).

Bei aufgerichteten Gaumenfalten sind die beschriebenen Unterschiede im Oberflächenfilm zwischen Falten spitze und Basis noch deutlicher geworden. Das beruht zum einen auf einer weiteren Verdickung und Granulierung auf der Oberfläche des Epithels der unmittelbar vor ihrer Fusion stehenden Gaumenfaltenspitze (Abb. 9 a). Zum anderen

lassen sich aber an der Basis der Gaumenfalte, insbesondere an der Oberfläche zur Nasalhöhle hin, Abschnitte darstellen, die keinen Rutheniumrot-positiven Belag mehr aufweisen (Abb. 9 b).

Im epithelnahen Mesenchym treten zu diesem Zeitpunkt differenzierte Zellen auf. Diese Mesenchymzellen unterscheiden sich von den zu früheren Zeitpunkten gesehenen durch erhebliche Verstärkung des Kernchromatins, gut ausgebildete GOLGI-Apparate und rauhem endoplasmatischen Retikulum sowie dem Auftreten von runden, membranumgrenzten, elektronendichten Körpern, in deren Matrix hellere, polymorphe Einschlüsse sind.

d) Fusionsphase der Epithelien:

Nach der epithelialen Fusion kommt es zu einer Zusammenhangsauflösung der medialen Gaumenfaltenepithelien und deren dreieckiger Aggregation am nasalen und oralen Rand des Fusionsssaumes (Abb. 13 a,b). Das Epithelgefüge ist in den Kontaktabschnitten zwar noch nicht wesentlich gestört, die ursprüngliche Basalmembran ist aber stellenweise nicht mehr nachzuweisen. Dadurch können sich mesenchymale Zellen mit ihren Fortsätzen in die freien Räume zwischen die Epithelzellen schieben. In Abhängigkeit vom Stadium der Epitheleinschmelzung verwischt also die ursprünglich scharfe Trennung zwischen Epithel und Mesenchym. In der Mitte des Fusionsssaumes liegen die epithelialen Zellen in Form von kleinen Zellballen oder sogar vereinzelt. Im Bereich des oralen oder nasalen Randes weisen die dicht gepackten Zellen eine Ausrichtung parallel zu den Seiten des gleichschenkligen Epithelgefüges auf. Die Basalmembran ist auch hier diskontinuierlich, über weite Strecken nur noch als sehr schmales, unterbrochenes Gebilde zu erkennen. Epithel- und Mesenchymzellen sind hier in unmittelbarem Kontakt zueinander.

Die epithelialen Zellen des Fusionsgebietes befinden sich einige Zeit nach der Fusion in unterschiedlichen Degenerationsstadien. Neben morphologisch intakten liegen dicht gepackt mehr oder weniger stark alterier-

te Epithelzellen oder Zelltrümmer, die sich dem Druck der benachbarten Zellen anzupassen scheinen (Abb. 14). Die am dunkleren Grundplasma erkennbaren, degenerierten Zellen zeigen eine zunehmende Verdichtung ihrer Zellinhalte, ihre spezifischen Kontakteinrichtungen gehen verloren, ihre Zellbegrenzungsstrukturen werden unschärfer und sind oft nicht mehr nachzuweisen. Es kommt zu radspeichenförmigen Gestaltveränderungen des Zellkerns, der Einschnürungen und Einstülpungen aufweist (Abb. 15). Das Kernchromatin verdichtet und verklumpt sich homogen über den Kernraum verteilt (Karyopyknose) oder knotenförmig der Kernmembran angelagert (Kernwandhyperchromatose). Gelegentlich werden Zellkernödematisierungen bei morphologisch intakter Kernmembran beobachtet.

Gleichzeitig oder sogar schon vor dem Sichtbarwerden von Zellkernalterationen setzen im Cytoplasma degenerative Veränderungen ein. Dieser Prozeß vollzieht sich über eine landkartenförmige, nur einzelne Cytoplasmaregionen betreffende Vergrößerung und Verdichtung elektronendichter, granulärer Strukturen, die sich an vielen Stellen kugelig zusammenballen. Durch die Zusammenballung solcher elektronendichter Granulastrukturen erscheint die cytoplasmatische Grundsubstanz hier hell, strukturlos oder als optisch leere, nicht membranumgrenzte Vakuole (Abb. 16). Diese Bezirke runden sich ab, werden von einer Membran umgrenzt und imponieren so als bis zu 15 μ große cytoplasmatische Einschlußkörper. Sie sind elektronendichter als das umgebende Cytoplasma und haben einen stark heterogenen, fein- bis grobgranulären, homogen verdichteten oder optisch leeren, vakuoligen Inhalt (Abb. 17 a,b). Diese sich schnell vergrößernden Einschlüsse greifen schließlich auch auf den Zellkern über und führen zu dessen Auflösung (Abb. 16). Das übrige Cytoplasma wird im Verlauf dieser degenerativen Veränderungen allmählich dichter, die freien Ribosomen lagern sich aneinander und verklumpen. Das zunächst kräftig ausgebildete, stark konturierte endoplasmatische Retikulum zerfällt vesikulär, die Mitochondrien weisen eine starke Schwellung, Homoge-

nisierung und Aufhellung ihrer Matrix auf.

Diese durch die Ausbildung von Einschlußkörpern (syn. degenerative bodies) charakterisierten Epithelveränderungen sind kennzeichnend für Abschnitte, in denen das Fusions-epithel dicht gepackt ist und eine Breite von mehr als zwei Schichten hat, also an den Übergangsbereichen zu den nasalen bzw. oralen Epithelzellansammlungen. In diesen Regionen kommen zu dieser Phase, die offenbar relativ frühen Degenerationsstadien zu entsprechen scheint, auch andere, von den bisher beschriebenen abweichende Degenerationsformen vor, allerdings nur vereinzelt und in sehr geringer Anzahl. Diese sind gekennzeichnet durch eine elektronendichte Homogenisierung und Kondensation der gesamten Zelle, deren Inhalt einschließlich seiner Begrenzungsstrukturen schnell so homogen und amorph werden, daß cytoplasmatische Strukturelemente nicht mehr differenziert und die Lage des untergegangenen Zellkerns nur noch anhand einer stärkeren Kontrastierung weitflächig verteilter, granulärer Strukturen erahnt werden können (Abb. 14). Da diese Gebilde keine Zellmembranen aufweisen und deutlich kleiner als ihre Nachbarzellen sind, ist es nicht klar, ob sie Zellen oder nur Zellfragmente darstellen.

An den Epithelabschnitten, an denen die Epithelzellen maximal nur zwei Schichten bilden oder isoliert und durch weite Zwischenräume voneinander getrennt liegen und an denen eine Basalmembran über weite Strecken fehlt oder als diskontinuierliches, feinfilamentäres, schleierförmiges Band auszumachen ist, treten die durch Kondensation und Homogenisierung gekennzeichneten, amorphen Degenerationsherde in den Vordergrund. Es muß angenommen werden, daß diese - annähernd in der Mitte der Fusionsnaht gelegenen - Abschnitte spätere Degenerationsstadien repräsentieren (Abb. 15). Das hier bevorzugt auftretende, ovalär geformte, amorphe Nekrosematerial, das aus einer überwiegend dichten, feinkörnigen Substanz besteht, in der auch rundliche, kontrastreiche, locker verteilte, grobgranuläre Strukturen auf heller Matrix vorkommen, füllt große Teile des Extrazellularraumes aus. Es wird von schmalen, fingerförmigen Cytoplas-

mavorsprünge benachbarter Epithelzellen umgeben. Dabei kann der Kontakt so eng sein, daß bei den üblichen Vergrößerungen nicht klar entschieden werden kann, ob das nekrotische Material noch extrazellulär liegt oder von benachbarten Zellen inkorporiert worden ist (Abb. 18).-

Solange der epitheliale Autolyseprozeß in vollem Gange ist, fehlt jegliche morphologisch faßbare Umgebungsreaktion. Insbesondere das Gaumenfaltenmesenchym unmittelbar unter dem Fusionsepithel zeigt keinerlei Hinweise, die als Anhalt für ein Reagieren auf die Epithelalterationen zu deuten wären, obwohl die Basalmembran in diesem Stadium weitestgehend verschwunden oder nur noch bruchstückhaft vorhanden ist.

Im Bereich der oralen oder nasalen Oberfläche an der Basis des Epitheldreiecks befinden sich weniger degenerierende Epithelzellen; der Übergang zu den tiefer gelegenen, stärkere nekrotische Erscheinungen aufweisenden Zellen ist jedoch fließend (Abb. 13 b). Der an den Fusionsepithelien beobachtete Oberflächenbelag verschwindet offenbar nach Berührung beider Epithelverbände rasch. Es gelang uns niemals, im Bereich des fusionierten Epithels Rutheniumrot-positive Strukturen an den Zelloberflächen nachzuweisen. In den Präparaten, bei denen der Fusionsprozeß in vollem Gange war, verringerte sich der Belag am Oberflächenepithel zur Nasen- und Mundhöhle hin in der Nähe des Fusionsgebietes. Hier sieht man Gruppen etwa 500 - 800 Å großer Granula an einzelnen Stellen der Zelloberflächen oder in einiger Entfernung davon aggregiert, während weite Bereiche der benachbarten Oberfläche bereits frei davon sind. Häufig konzentriert sich der elektronendichte Oberflächenbelag auch in halbmondförmigen, etwa 1000 - 1200 Å langen Strukturen, die mit ihrer Konkavität in das Lumen ragen. An einzelnen Stellen zerfällt und aggregiert der Oberflächenbelag offenbar nicht granulär, sondern hebt sich in Lamellenform ab (Abb. 10 a-d).

Diskussion

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen zur Palatogenese von Mäuseembryonen des NMRI-Stammes wurden erhebliche Schwankungen im Erreichen von bestimmten, willkürlich festzusetzenden Entwicklungsstadien zu jeweiligen Untersuchungszeitpunkten beobachtet. Diese Schwankungen betreffen im Einzeltier sowohl die unterschiedlichen Abschnitte einer Gaumenfalte, als auch die Entwicklung beider Gaumenfalten im Vergleich zueinander. Beispiel für ersteres wäre das unterschiedliche Horizontalisieren der einzelnen Abschnitte einer Gaumenfalte: die horizontale Position wird zuerst vom vorderen Mittelabschnitt der Gaumenfalte erreicht, die übrigen Abschnitte folgen zeitlich verzögert. Beispiel für die asynchrone Entwicklung beider Gaumenfalten im Vergleich zueinander - dieses ist zumindest bis zum Zeitpunkt der Aneinanderlagerung beider Gaumenfalten makroskopisch gut zu erkennen - sei die Horizontalisierung einer Gaumenfalte bei noch vertikal herabhängender anderer Gaumenfalte. In diesem Stadium ist die Nasooralkavität, besonders eindrucksvoll sichtbar an der Zunge, stark asymmetrisch (Abb. 2 e-h).

Die Entwicklungsschwankungen chronologisch gleichaltriger Mäuseembryonen eines Uterus sind deutlich, werden aber noch übertroffen beim Vergleich chronologisch gleichaltriger Embryonen, die von mehreren Tieren stammen. Diese Wachstumsunterschiede werden hierbei auf bis zu 10 Stunden geschätzt. Obwohl auf eine statistische Analyse zur Errechnung von Standard-Normalkurven und Wahrscheinlichkeiten im Erreichen bestimmter morphogenetischer Entwicklungspunkte chronologisch gleichaltriger Embryonen wegen der relativ geringen Anzahl der Untersuchungstiere verzichtet wurde, müßte die Frage geklärt werden, ob tatsächlich signifikante Unterschiede in der morphogenetischen Zeitabhängigkeit auftreten. Die Abklärung solcher Fragestellung ist insbesondere für die Beurteilung teratogener Effekte auf entsprechende morphogenetische Vorgänge relevant. Die beschriebenen, hier als Normalvariation bewert-

teten Steuungen in der Morphogenese chronologisch gleichaltiger Embryonen sind auch von vielen anderen Untersuchern gesehen worden (WALKER and FRASER, 1956; ROSS and WALKER, 1967; SMILEY and KOCH, 1971; SWENEY and SHAPIRO, 1970; WALKER, 1971; SHAH and CHAUDRY, 1973).

Unter Berücksichtigung der großen Variabilität erscheint es konsequenterweise sinnvoll, sich bei der Beschreibung von Entwicklungsvorgängen eher auf jeweils vorherrschende morphogenetische Stadien, die bei der Mehrzahl der Embryonen zum Untersuchungszeitpunkt vorliegen, als auf eine auf das Gestationsalter bezogene chronologische Zuordnung zu beziehen (vgl. morphologische Stadieneinteilungen der Palatogenese bei WALKER and FRASER, 1956; SWENEY and SHAPIRO, 1970; WATERMAN and MELLER, 1974; u.a.). Eine zusätzliche Hilfe wäre sicher das Erfassen von weiteren körperlichen Entwicklungsmerkmalen, um diese mit der spezifischen Morphogenese des Untersuchungsorgans zu korrelieren. Solche speziesspezifischen Korrelationen bei der Untersuchung der Palatogenese wurden von WALKER and FRASER (1956) durchgeführt, die die Schwankungsbreiten im scheinbar gleichen chronologischen Alter durch die Einführung von "morphologischen Altersstufen" erheblich verringerten. Als Beispiel für die gute Schätzung des morphologischen Zustandes durch Hinzuziehen weiterer Entwicklungskriterien seien die Beobachtungen von WRAGG et al. (1972) angeführt, der ohne direkte Inspektion des Gaumens die Position der Gaumenfalten in der Nasooralkavität angeben kann. So seien stets bei geschlossenen Lippen die Gaumenfalten vertikal und die Zunge oben in der Nasooralkavität, während bei geöffneten Lippen und vorgestreckter Zunge die Gaumenfalten sich in einer horizontalen Position befänden.

Es ist anzunehmen, daß den beobachteten großen zeitlichen Variabilitäten, die sowohl für Vorgänge im Einzeltier, als auch im Vergleich mit anderen Tieren gelten, komplexe, multikonditionale und multifaktorielle Geschehnisse zugrundeliegen.

Die eigenen makroskopischen und histologischen Befunde be-

stätigen frühere Untersuchungen des Ablaufs der Gaumenfaltenaufrichtung (WALKER and FRASER, 1956; COLEMAN, 1965; u.a.). Die subjektiv beobachteten Unterschiede der äußeren Gestalt und der mesenchymalen Zelldichte in den einzelnen Gaumenfaltenabschnitten, solange diese eine vertikale Position innehaben, können Hinweis auf Ungleichheiten des Gewebedruckes in ihnen sein. So könnte die geringere Packungsdichte mesenchymaler Zellen in den medialen und posterioren Gaumenfaltenabschnitten korrelieren mit einer relativ höheren Menge lichtmikroskopisch nicht faßbarer, interzellulärer Substanzen. Frühere Untersuchungen (WALKER, 1961; LARSSON, 1962) machen es wahrscheinlich, daß es sich dabei - bei einem Fehlen von kollagenem Fasermaterial - überwiegend um saure MPS-Substanzen handelt, die aufgrund ihrer im Verlaufe der Gaumenfaltenentwicklung zunehmenden Wasserbindung als Quelle der "intrinsic force" (WALKER and FRASER, 1956) der Gaumenfalten für ihre Aufrichtung angesehen werden (WALKER, 1961; LARSSON, 1962). Eine ungleiche Verteilung von Zellen und unterschiedlich aggregierten MPS-Substanzen im Gaumenfaltenmesenchym verursacht Druck- und Spannungsunterschiede im Gaumenfaltenmesenchym. Morphologisch erfaßbare Zelldichteunterschiede und die davon abgeleiteten Spannungsunterschiede können als in den Gaumenfalten lokalisiertes Substrat gelten, das in direkten Zusammenhang mit dem Asynchronismus der Faltenaufrichtung gebracht werden könnte, sofern dafür nicht ausschließlich außerhalb der Gaumenfalten gelegene Faktoren verantwortlich wären.

Als ursächliche Faktoren für das asynchrone Horizontalisieren bzw. Fusionieren bestimmter Abschnitte einer Gaumenfalte könnten Beeinflussungen durch die den Gaumenfaltenabschnitten benachbarten Regionen in Frage kommen. Genannt seien das unterschiedliche Breitenwachstum der Mundhöhle und der Zunge entlang ihrer Längsachse (WRAGG et al., 1972), die Zungenstreckung mit anterior und posterior unterschiedlichen Druckgradienten der Zunge gegen die Gaumenfalte (LARSSON, 1962), Nackenstreckung (u.a. SCHWEICHEL und SEINSCH, 1973) oder die Anlagen von Zahnkeimen

und Ossifikationszentren (LARSSON, 1962).

Ursächliche Faktoren für den Asynchronismus bei der Aufrichtung beider Gaumenfalten und die dadurch entstehende starke Asymmetrie der gesamten Nasooralkavität einschließlich der Zunge sind noch nicht hinreichend aufgeklärt. Es ist jedoch zu vermuten, daß beispielsweise mechanische Faktoren wie seitenungleiche Einwirkungen der die Horizontalisierung der Gaumenfalten beeinflussenden Kräfte dafür verantwortlich wären. So entsteht auf der Abb. 2 f beispielsweise der Eindruck, als hindere die herabhängende, plumpe und breite Gaumenfalte die Zunge an deren Hineingleiten in den durch die Aufrichtung der Falte freiwerdenden Raum. Erst wenn durch stärkeren Druck der Zunge (vielleicht aufgrund einer Zungenkontraktion oder anderer, diesen Vorgang begünstigender Faktoren) auf diese Gaumenfalte oder durch eine weitere, die Aufrichtung fördernde, zum Dach der Nasenhöhle gerichtete Kraft der Gaumenfalte ein Aneinandervorbeigleiten erfolgt ist, können sich die Gaumenfalten "fusionsgerecht" horizontalisieren und die Zunge lateral - wie auf der gegenüberliegenden Seite bereits geschehen - bis zur Wand der Oralkavität ausdehnen (vgl. hierzu WRAGG et al., 1972).

Die Wachstumsunterschiede bei Mäuseembryonen eines Uterus lassen sich hinreichend durch die für die einzelnen Embryonen unterschiedlichen intrauterinen Bedingungen erklären. Als die Schwankungsbreite mitbeeinflussende Faktoren seien nur die Anzahl der Embryonen im Uterus, die ungleiche diaplazentare Substratversorgung sowie Unterschiede im Genotyp der Embryonen genannt (NEUBERT, 1975).

Die Bedeutung des medialen Gaumenfaltenepithels liegt in seiner Fähigkeit, die für den sekundären Gaumenschluß notwendige, stabile epitheliale Anhaftung der Falten zu ermöglichen (POURTOIS, 1966; FARBMAN, 1968; HAYWARD, 1969). Die der eigentlichen Fusion vorausgehenden Schritte sind nach POURTOIS (1968) 1. die histologisch nicht erfaßbare, experimentell abgeleitete "Prädifferentierung", durch die die Befähigung zur Fusion erworben wird ("acquisition of

fusion potentiality", POURTOIS, 1968) und 2. der histologisch faßbare Schritt einer morphologischen Differenzierung der peridermalen Schichten, die mit einem Anstieg der Adhäsivität der Fusionsepithelien in Zusammenhang stehen soll. Als Folge einer solchen Differenzierung kommt es dann zur tatsächlichen Fusion. Die in-vitro-Versuche von POURTOIS (1966, 1968) haben weiterhin ergeben, daß der Erwerb dieser Eigenschaften genetisch determiniert ist. In Analogie zu den experimentellen Befunden wird vermutet, daß die Fusionspotenz etwa 40 Stunden vor dem eigentlichen Gaumenschluß von den Gaumenfalten der Mäuseembryonen in vivo erworben wird (VARGAS, 1967). Der auslösende Schritt für den Erwerb dieser Befähigung ist morphologisch bisher noch nicht nachweisbar. Jedoch werden histochemische Veränderungen der Enzymsysteme in den entsprechenden Geweben (SHAPIRO and SWENEY, 1969), ein lokaler Anstieg der Adhäsion zwischen den Zellen der äußeren Epithelschicht einer Seite (POURTOIS, 1968), eine Zunahme der Syntheserate von sauren Mucopolysacchariden im Gaumenfaltenmesenchym (WALKER, 1961; LARSSON, 1962), der epitheliale Zelltod vor dem Kontakt der Falten (MATO et al., 1972) sowie Mesenchymveränderungen (SWENEY and SHAPIRO, 1970) mit dem Erwerb der Fusionsbefähigung in Zusammenhang gebracht und als indirekte Differenzierungszeichen angesehen.

Die eigenen elektronenmikroskopischen Befunde lassen sich als weiteres Differenzierungszeichen im Sinne POURTOIS deuten. Der mit der von LUFT (1971, a und b) entwickelten Rutheniumrot-Methode gut darstellbare Oberflächenbelag an der Spitze der noch vertikal herabhängenden Gaumenfalte ist quantitativ dicker und dichter als der an anderen Stellen der Gaumenfalte. Auch auf den horizontalisierten, noch vor ihrer Fusion stehenden medialen Gaumenfaltenepithelien ist dieser Oberflächenbelag weitaus stärker ausgebildet als auf oralem oder nasalem Gaumenfaltenepithel. Dieser Befund bestärkt die Vermutung von WALKER and ROSS (1972) und WATERMAN et al. (1973), daß der inferiore Rand der vertikal herabhängenden Gaumenfalte der mediale Fusionsbezirk nach der Horizontalisierung der Gaumenfalte wird. Solche

Bilder können zusätzlich als Hinweis für den noch nicht endgültig geklärten Mechanismus der Gaumenfaltenaufrichtung dienen, da er einen Rotationsmechanismus für den Vorgang der Horizontalisierung der Falten wahrscheinlich macht (vgl. COLEMAN, 1965).

Obwohl sich der dicke Oberflächenbelag bereits zu einem Zeitpunkt nachweisen läßt, an dem morphologisch noch keine tiefgreifenden Alterationen des darunterliegenden Gaumenfaltenepithels, die auf eine zelluläre Differenzierung hindeuten, zu beobachten sind, darf trotzdem vermutet werden, daß dieser Oberflächenbelag im Zusammenhang mit der späteren Fusion steht. Aufgrund der noch nicht nachweisbaren zellulären Differenzierung mag die Ausbildung eines so starken Oberflächenbelages als ein morphologisches Korrelat des "Prädifferentiationsstadiums" nach POURTOIS angesehen werden. Unterstützt wird diese Vermutung durch die neuesten Befunde von GREENE and KOCHHAR (1974), die nachwiesen, daß ein Rutheniumrot-positiver Oberflächenbelag an den Gaumenfalten von Mäuseembryonen erst ca. 48 Stunden vor Gaumenschluß auftritt und somit in enger zeitlicher Korrelation mit dem Erwerb der Fusionspotenz der entsprechenden Epithelien steht.

Durch den RR-positiven adhäsiven Oberflächenbelag könnte darüberhinaus auch das für die Aufrichtung der Gaumenfalten notwendige Vorbeigleiten an der Zunge erleichtert werden. Diese Vermutung findet in analogen Befunden von SCHWARZ (1973, 1974) ihre Stütze, der einen mit Rutheniumrot anfärbbaren Oberflächenbelag auf serösen Häuten von Körperhöhlen und als präcornealen Film morphologisch nachwies. Aufgrund der chemischen Beschaffenheit solcher Oberflächenfilme kann die Reibung innerer Organe auf ein Minimum reduziert werden (SCHWARZ, 1974). Die Oberflächenbeläge enthalten zu einem großen Teil Glycosaminoglycane (RAMBOURG, 1971), die durch ihre hohe Wasserbindungskapazität eine permanente Oberflächenbefeuchtung bei geringster Menge Flüssigkeit ermöglichen. Der morphologische Nachweis eines RR-positiven Oberflächenbelages ist im

Kontaktbereich von Zungen- und Gaumenfaltenepithel jedoch nur abschnittsweise gelungen. Eine Ursache dafür könnte im engen Aneinanderliegen beider Epithelien begründet sein, so daß bei der Fixierung unter RR-Zusatz dieser Farbstoff nur ungleichmäßig penetriert ist. Eine sich in einer deutlich veränderten Färbeeigenschaft mit RR äussernde Änderung der physiko-chemischen Eigenschaften des Oberflächenbelages während des Aneinandervorbeigleitens der Gaumenfalte an der Zunge erscheint dagegen unwahrscheinlicher. Einen gewissen Hinweis für diese Annahme mag der eindeutig positive Nachweis eines RR-positiven Oberflächenbelages an den horizontalisierten, frei in die Mundhöhle ragenden, über der Zunge liegenden Gaumenfalten sein.

Die bisherigen Angaben zur Morphologie des initialen Kontaktes der Fusionsepithelien sind - wie in der Einleitung betont - sehr unterschiedlich (FARBMAN, 1968; HAYWARD, 1969; SMILEY and KOCH, 1972; MATO et al., 1972; WATERMAN et al., 1973; GREENE and KOCHHAR, 1974). Die eigenen Befunde bestätigen das Vorhandensein eines bereits früher vermuteten adhäsiven Oberflächenbelages (FARBMAN, 1968; HAYWARD, 1969). Entsprechend den chemischen Untersuchungen von LUFT (1971, a) über die Spezifität der RR-Reaktion muß angenommen werden, daß es sich bei den als Oberflächenbelag imponierenden Substanzen um membranständige Glycosaminoglycane handelt. Glycosaminoglycane (GAG), deren Zähflüssigkeit und Adhäsivität auf die hochmolekularen Polysaccharide und insbesondere auf deren hohen Sialinsäure-(=Acetylneuraminsäure)-Anteil zurückzuführen sind, können über anionische Bindungen an den Sialinsäureresten mit Rutheniumrot chemisch gebunden und damit elektronenoptisch nachgewiesen werden (ACKERMAN, 1972; MERKER und GÜNTHER, 1973). Ein biochemischer Hinweis, daß es sich vorwiegend um Sialinsäure, sog. Sialomucine, in solchen Oberflächenbelägen handelt, wurde u.a. von ACKERMAN (1972) erbracht: Die Behandlung nicht-fixierter, einen Oberflächenbelag aufweisender Zellen mit Neuramidase verhindert aufgrund der von ihr bewirkten Trennung

der Sialinsäure vom Glycoprotein (COOK, 1968) die Anfärbbarkeit dieses Belages mit Rutheniumrot.

In jüngster Zeit wurden unter Verwendung anderer Methoden weitere Versuche unternommen, das Vorhandensein von GAG auf den Gaumenfaltenfusionsepithelien morphologisch nachzuweisen. PRATT, GIBSON and HASSELL (1973) benutzten CONCAVALIN A, das über die Carbohydratgruppen von endständigen Zuckerresten der Glycoproteine bzw. Polysaccharide an diese gebunden wird, und kamen zu einem positiven Nachweis eines Oberflächenraumes am Fusionsepithel. GREENE and KOCHHAR (1974) benutzten ohne eindeutige Ergebnisse ein von AINSWORTH, ITO and KARNOVSKY (1972) angegebenes Nachweisverfahren, das über eine Bindung von metallischem Wismut an die zu Aldehydgruppen oxidierten freien Glycolgruppen in den Polysaccharidanteilen der GAG zustandekommt.

Den chemischen Eigenschaften eines solchen mit RR anfärbbaren Oberflächenbelages entsprechend läßt sich die Adhäsion der Fusionsepithelzellmembranen beider Gaumenfaltenspitzen mit dem Vorhandensein stark sialinsäurehaltiger GAG erklären. Ein Nachweis der Intensität dieser Adhäsion wurde durch accidentelles (FARBMAN, 1968) und durch experimentelles mechanisches (DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968) Auseinanderziehen erbracht. Ungeklärt muß jedoch die Frage bleiben, ob die Verdickung bzw. Verstärkung der RR-Reaktion im Adhäsionsbereich der Gaumenfaltenspitzen auf eine Vermehrung oder aber auf eine chemische Veränderung des Oberflächenbelages hinweisen.

Ein denkbarer Widerspruch hinsichtlich der Eigenschaften dieses Oberflächenbelages, nämlich daß er einerseits ein Vorbeigleiten von Geweben aneinander (Gaumenfalten gleiten an der Zunge vorbei) erleichtert, andererseits später genau das Gegenteil, eine Adhäsion (Gaumenfalten haften aneinander, Gaumenfalten und Nasalseptum haften aneinander), mitbewirkt, läßt sich möglicherweise folgendermaßen auflösen:

1. Der Zeitpunkt, von dem ab die Fusionsfähigkeit reali-

siert werden kann, träte erst nach dem Vorbeigleiten der Falten an der Zunge ein, denn es kommt dabei nicht zu Verschmelzungsvorgängen zwischen Zungen- und Gaumenfaltenepithel (VARGAS, 1967; HAYWARD, 1969; SWENEY and SHAPIRO, 1970). Für diese Hypothese gibt es wenig Argumente; die morphologischen Befunde - beispielsweise das Auftreten eines (adhäsiven) Oberflächenbelages - scheinen ebenso dagegen zu sprechen wie in-vitro-Versuche (vgl. VARGAS, 1967; POURTOIS, 1966).

2. Das mit der Aufrichtung der Gaumenfalten einhergehende Vorbeigleiten der Zunge vollzieht sich so schnell (vielleicht auch aufgrund irgendwelcher stark lateral-caudal wirkender Kräfte der Zunge), daß ein mögliches Aneinanderhaften von adhäsivem medialen Gaumenfalten- und lateralem Zungenepithel nicht erfolgen kann.
3. Weil eine Adhäsion beider Epithelien während der Zeit, in der dynamische oder Kräftefaktoren kaum eine Rolle spielen, ebenfalls nicht erfolgt ist, muß eine chemisch-physikalische Änderung, die beispielsweise in einer Änderung des Polymerisationsgrades oder des Aggregatzustandes des Oberflächenbelages bestehen könnte, in Betracht gezogen werden. Diese würde während der Präfusionszeit - also möglicherweise erst nach abgeschlossenem Vorbeigleiten der Gaumenfalten an der Zunge - zu einem Anstieg der Adhäsion führen können.
4. Das Vermögen embryonaler Epithelverbände, miteinander in Kontakt zu kommen und aneinander haften zu bleiben, setzt eine spezifische Fähigkeit der Epithelzellen voraus, sich als "einander zugehörig" zu erkennen. Nur "artverwandte" Epithelzellen verschmelzen miteinander; zwischen "nicht-artverwandten" Zellen kommt es nicht zu einem anhaltenden Kontakt (vgl. hierzu WEIB, 1961). Nimmt man an, daß Zungen- und Gaumenfaltenepithel unterschiedliche funktionelle Eigenschaften haben - diese könnten sich beispielsweise in unterschied-

lichem Antigen-, Permeabilitäts- oder Enzymverhalten der Epitheloberflächen äußern -, so mag eine Folge dieser Unterschiedlichkeit die sein, daß sich die entsprechenden Epithelzellen als "einander-nicht-zugehörig" erkennen und es infolgedessen zu keinem bleibenden Kontakt kommt. Die spezifischen Zugehörigkeits- oder Nicht-Zugehörigkeits-Erkennungsmechanismen und die dadurch zustandekommende Selektivität von Adhäsionsvorgängen sind noch nicht ausreichend aufgeklärt: Hierbei mögen ontogenetische Unterschiede von Gaumenfalten und Zunge mit eine Rolle spielen. Als positives Beispiel für eine solche Selektivität der Adhäsion embryonaler Epithelverbände mag neben der über sie erfolgenden Fusion der medialen Gaumenfaltenepithelien auch die Fusion der Gaumenfalten mit dem Nasalseptum gelten. Eine ektopische Fusion zwischen Zunge und Gaumen sei sehr selten beobachtet worden (HUMPHREY, 1970).

Eine genaue Abklärung dieser Hypothesen ist noch nicht erfolgt.-

Bisherige Untersuchungen über die Art des Kontaktes der beiden medialen Gaumenfaltenabschnitte miteinander ergaben die Existenz verschiedener Membranspezialisierungen in der Präfusionszeit (DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968; HAYWARD, 1969; SMILEY and KOCH, 1971, 1972; MATO et al., 1972; WATERMAN et al., 1973).- Die eigenen Befunde zeigen im Präfusionsepithel eine Vielzahl von Mikrovilli-artigen Vorsprüngen. Sie sind eine Bestätigung der Beobachtungen anderer Untersucher (DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968; SMILEY and KOCH, 1971). Diese Mikrovilli müssen als eine weitere, ebenfalls vor der eigentlichen Fusion bereitstehende Differenzierung des Fusionsepithels angesehen werden. Ihre genaue funktionelle Bedeutung scheint sowohl in einer Vergrößerung der adhäsiven Zelloberfläche während der initialen Kontaktphase, als auch in einer mehr mechanischen Verankerung der oberflächlichen Berührungsmembranen zu bestehen.

Während der initialen epithelialen Adhäsionsphase konnten keine Desmosomen beobachtet werden. Diese Beobachtung steht in Übereinstimmung mit Berichten anderer Untersucher (FARBMAN, 1968, 1969; HAYWARD, 1969; NANDA and KELLY, 1973). Selbst bei Berücksichtigung einer ungleichmäßigen dreidimensionalen Verteilung der Desmosomen und ungünstiger Schnittebenen (HAYWARD, 1969) scheint in den hier vorliegenden Befunden die Vermutung von FARBMAN (1968, 1969) eine Bestätigung zu erfahren, nach der Desmosomen erst sekundär im Fusionsepithel auftreten und sie somit beim initialen Adhäsionsprozeß keine Rolle spielen.- Zusammengefaßt deuten unsere Ergebnisse darauf hin, daß der initiale Prozeß der Anheftung der medialen Gaumenfaltenfusionsepithelien durch einen spezifischen, dicken Oberflächenbelag und durch Mikrovilli zustandekommt.-

Der epithelialen Fusion beider Gaumenfalten folgen in fließendem Übergang Vorgänge, die zur vollständigen Auflösung des Fusionssaumes durch Beseitigung der Epithelzellen führen. Unabhängig vom noch umstrittenen Zeitpunkt des Einsetzens degenerativer Veränderungen im medialen Gaumenfaltenepithel sind die Phänomene des notwendigen Unterganges der Fusionsepithelien nach Beendigung ihrer morphogenetischen Funktion von größtem Interesse. Sie können als Beispiel für das allgemeingültige biologische Entwicklungsprinzip des sog. "programmierten, physiologischen Zelltodes" (GLÜCKSMAN, 1951; SAUNDERS, 1966) bzw. der "physiologischen Nekrosen" (GOERTTLER, 1964) angesehen werden. Der physiologische Zelltod spielt eine zentrale Rolle bei der funktionalen Differenzierung zur Morpho-, Phylo-, Onto- und Histogenese in embryonalen Systemen (vgl. Zusammenfassung bei WENDLER, 1972; SCHWEICHEL, 1970). Über diesen Mechanismus des physiologischen Zelltodes erfolgt die biologisch sinnvolle, "notwendig" erscheinende Beseitigung funktionslos gewordener Zellverbände oder Einzelzellen. Entsprechend der Hypothese einer Notwendigkeit des Zelltodes für die Normogenese

muß ein Persistieren von zum Untergang determiniertem Gewebe als pathologisches Ereignis betrachtet werden (WENDLER, 1972). Die unter dem Begriff des physiologischen Zelltodes subsumierten, nicht pathologischen Zell- bzw. Gewebsdegenerationen und -nekrosen treten in vielen höher differenzierten, embryonalen Systemen im Verlauf ihrer Onto- bzw. Morphogenese auf. Ihre verursachenden und auslösenden Mechanismen sind noch weitestgehend im Stadium der Erforschung. Die funktionelle Deutung solcher physiologischen Nekrosen ist in Einzelfällen noch umstritten. Als ursächliche Teilfaktoren werden physikalische, chemisch-hormonale, nervale, enzymatische und nucleäre Mechanismen diskutiert (Literaturzusammenfassung siehe SCHWEICHEL, 1970). Direkte morphologische Hinweise auf auslösende Ursachen eines so komplexen Geschehens gibt es zur Zeit noch nicht.

Das elektronenmikroskopische Übersichtsbild horizontalisierter, noch durch einen schmalen Spalt voneinander getrennter Gaumenfalten zeigt, daß vereinzelt im gesamten Gaumenfaltenepithel Einzelzellnekrosen während der Präfusionsphase auftreten, die aber keine Häufigkeitszunahme im medialen, unmittelbar vor dem Kontakt stehenden Gaumenfaltenepithel aufweisen. Diese Einzelzellnekrosen können daher nicht in Zusammenhang mit den während der eigentlichen epithelialen Fusion auftretenden, nahezu sämtliche Epithelzellen des Fusionsssaumes betreffenden Degenerationen und Nekrosen gebracht werden.

Im Gegensatz dazu stehen die beobachteten lokalisations- und zeitspezifischen Nekrosen der aneinanderhaftenden Gaumenfaltenepithelien. Diese sind gekennzeichnet durch das Fehlen irgendwelcher gesamtgeweblicher Umgebungsreaktionen (z.B. Mesenchymreaktion mit Zunahme der Mitosen, Ödematisierung, Auftreten spezifischer Blutzellen, regenerativem Ersatz usw.), wie sie für pathologische Nekrosen typisch sind, deren morphologisches Substrat die Entzündungsreaktion ist. Damit sind die bei der Fusion beider Gaumenfalten auftretenden Nekrosen nicht als pathologische, sondern als physiologische anzusehen.

Die eigenen morphologischen Befunde der Fusionssaum-Nekrosen bestätigen Ergebnisse anderer Untersucher (MATO et al., 1966; POURTOIS, 1968; ANGELICI and POURTOIS, 1968; SWENEY and SHAPIRO, 1970; BLUNK, 1970; SMILEY and KOCH, 1972).

Die Epithelzellen des Fusionsgebietes befinden sich in unterschiedlichen Degenerationsstadien. Obwohl in der Übersicht der Eindruck entsteht, als befänden sich die in der Mitte der Fusionsnaht gelegenen Zellen, die ja zuerst in Kontakt mit der Gegenseite kamen, in späteren Degenerationsstadien als die im nasalen und oralen Randbereich, mag das für die einzelne Zelle nicht zutreffen. Dieser auch aufgrund der stärkeren Epitheldisruption und der damit verbundenen geringen Breite des Epithelsaumes im Mittelbereich der Gaumenplatte entstehende Eindruck könnte die Annahme verstärken, daß erst ein Kontakt mit dem gegenüberliegenden Epithel den vollen Degenerationsvorgang auslöst.

Die initialen Degenerationerscheinungen im Fusionsepithel sind charakterisiert durch die über Vergrößerung und Einschließung granulärer Cytoplasmastrukturen erfolgende Ausbildung von membranumgrenzten, elektronendichten Gebilden mit polymorphem, heterogenem Inhalt. Diese ausschließlich im Cytoplasma lokalisierten Einschußkörper sind identisch mit den im amerikanischen Schrifttum als "electron dense granules" bzw. "degenerative bodies" bezeichneten auf den Aufnahmen anderer Untersucher (z.B. MATO et al., 1966; ANGELICI and POURTOIS, 1968; SMILEY and KOCH, 1972) und werden als Cytolysosomen syn. autophagische Vakuolen gedeutet. Die durch solche Cytolysosomen gekennzeichneten Zellen entsprechen morphologisch und hinsichtlich des Verlaufs ihrer Nekrose dem Typ II der Einteilung von SCHWEICHEL und MERKER (1973).

Daneben tritt vorzugsweise in Abschnitten starker Epitheldisruption amorphes, homogenes, nicht membranumgrenztes Material auf. Das nekrotische Material ist kleiner als die ihm benachbarten Zellen und wird als Zellfragment angesehen. Es kann hierbei nicht hinreichend geklärt werden, ob dieses Trümmermaterial einer Endstufe von Zellnekrosen entspricht, die über Cytolysosomenaktivierung erfolgen

(Typ II - Nekrose nach SCHWEICHEL und MERKER, 1973), oder ob es Resultat einer davon zu unterscheidenden, weiteren Nekroseform ist, die durch Kondensation und anschließende Fragmentation ohne Cytolysosomenbeteiligung zustandekommt und dem Nekrose-Typ I der Einteilung von SCHWEICHEL und MERKER (1973) entsprechen könnte. Für letzteres spricht die homogenere Gesamtstruktur, die nicht voll in Einklang mit dem heterogenen autophagischen Vakuolenmaterial zu bringen ist, in dem meist noch strukturierte Zellbestandteile zu erkennen sind.

Die Beseitigung der Zelltrümmer erfolgt in den von uns beobachteten Phasen ausschließlich über epitheliale Mechanismen. Ein Großteil des epithelialen Zellmaterials wird durch die Verdichtung und Einschmelzung in Cytolysosomen beseitigt. Die verbleibenden fragmentierten, extrazellulär gelegenen Zellreste werden offenbar von Cytoplasmavorsprüngen epithelialer Nachbarzellen ringförmig umschlossen und phagocytiert. Dieser Vorgang epithelialer Phagocytose wurde von uns nur an einer Stelle beobachtet (Abb. 18). Das mag Hinweis auf die vermutete Schnelligkeit eines solchen Prozesses sein. Andererseits könnten die durch den Präparationsvorgang hervorgerufenen Irritationen dazu geführt haben, daß die phagocytierende Zelle das zu inkorporierende Material schnell noch umschlossen hat und dieses somit als Cytoplasma-Organelle erscheint, oder aber die Cytoplasmavorsprünge zogen sich sofort zurück und beließen das Material deutlich abgegrenzt im Extrazellularraum. Die mutmaßliche Schnelligkeit der Phagocytose mag erklären, warum dieser Vorgang in diesen Abschnitten so selten beobachtet werden kann, daß die Phagocytosefähigkeit der Fusionsepithelien angezweifelt wurde (HAYWARD, 1969).

Zusätzlich muß betont werden, daß im Einzelfall eine Differenzierung außerordentlich schwierig sein kann, ob es sich bei den cytoplasmatischen Einschlüssen um autophagische Vakuolen oder um inkorporiertes Phagocytosematerial handelt. Diese Schwierigkeit taucht insbesondere dann auf, wenn Umgrenzungsstrukturen von solchen Einschlüssen nicht nachzuweisen sind. Als Beispiel mag die Abb.

17 b angeführt werden, die eine Zelle mit einer heterogenen cytoplasmatischen Einschlußzone zeigt, in der ein rundes, stark kontrastiertes Gebilde imponiert. Dieser Einschlußzone ist ein wenig alterierter Zellkern unmittelbar benachbart. Es kann nicht ausgeschlossen werden, daß es sich bei dem stark elektronendichten Gebilde um verdichtetes Zellkernmaterial handelt, das nur mittels Phagocytose in diese Zelle gelangt sein könnte. Allerdings ist eine die Phagocytose beweisende, doppelte Umschließungsmembran um diese Einschlußzone nicht (mehr?) zu erkennen, so daß dieses Bild auch an eine autophagische Vakuole denken lassen muß, bei der die Membranzumschließung noch nicht eingetreten ist. Das stark elektronendichte Material in der Einschlußzone entspräche dann auf keinen Fall verdichtetem Zellkernmaterial.

Zweifelsfrei kann die epitheliale Phagocytose allein nicht ausreichen, das gesamte epitheliale Autolysematerial zu beseitigen. Obwohl von uns keinerlei mesenchymale Reaktion auf die epithelialen Autolysevorgänge in unmittelbarer Nähe des Fusionsgebietes beobachtet wurde - zu erwarten wäre eine Verstärkung der Mesenchymzellichte mit einer Verringerung der mesenchymalen Interzellularräume, Differenzierung mesenchymaler Zellen zu Freßzellen, Ausrichtung der Zellen entlang der Gaumenfaltenfusionslinie u.a.m. -, soll die endgültige Beseitigung epithelialer Zelltrümmer durch mesenchymale Phagocytose erfolgen (z.B. FARBMAN, 1968; ANGELICI and POURTOIS, 1968; BLUNK, 1970). Die Bereitstellung bzw. Differenzierung dazu befähigter Mesenchymzellen erfordert offenbar so viel Zeit, daß der primäre epitheliale Autophagieprozeß schon zum Erliegen gekommen ist, wenn die sekundäre mesenchymale Heterophagie einsetzt.-

Die mesenchymale Fusion kann erst nach dem Aufreißen des als mechanische Barriere wirkenden Fusionsepithelverbandes einschließlich seiner Basalmembranen erfolgen. Hierbei sind die Ursachen für das Einreißen der Basalmembran und die zeitliche Korrelation mit dem Auftreten von degenerativen Epithelveränderungen stark umstritten (MATO et al., 1967, 1972; HUGHES et al., 1967; FARBMAN, 1968;

BRUSATI and MIANI, 1968; SMILEY and DIXON, 1968; SMILEY and KOCH, 1971, 1972; SMILEY, 1970; SWENEY and SHAPIRO, 1970; SHAPIRO and SWENEY, 1969). Basierend auf gegensätzlichen morphologischen Befunden über den Zeitpunkt des Einreißens der Basalmembranen werden kontroverse Hypothesen aufgestellt. Einerseits setze zunächst eine epitheliale Degeneration und Lysis ein - umstritten ist hierbei, ob dafür physikalischer Kontakt der beiden Epithelzellverbände notwendige Voraussetzung ist (vgl. MILLER and SHAPIRO, 1968; SMILEY and KOCH, 1972; IDOYA-VARGAS et al., 1972; WATERMAN et al., 1973) -, und als deren Folge komme es zu einer Disruption des Epithels und dem damit verbundenen Einreißen der Basalmembranen (SMILEY and KOCH, 1972; WATERMAN et al., 1973). Andererseits könnten Alterationen in der Basalmembran, die sich morphologisch in einer veränderten Anfärbbarkeit zeigen (MATO et al., 1972), mitauslösendes Moment für die nachfolgend eintretenden Epitheldegenerationen sein (FARBMAN, 1968).

Diese Hypothesen lassen die Bedeutung der Basalmembran erahnen, die ihr im Zusammenhang mit der Auflösung des Fusionsepithels zuerkannt wird. Der Basalmembran wird deshalb ein besonderes Interesse entgegengebracht, weil wegen der Komplexität und Spezifität des Fusionsvorganges spezifische epithelio-mesenchymale Interaktionsformen zwischen dem medialen Gaumenfaltenepithel und dem darunterliegenden, durch eine Basalmembran von ihm getrennten Mesenchym angenommen werden (POURTOIS, 1968; FARBMAN, 1968; SHAPIRO and SWENEY, 1969; HUDSON and SHAPIRO, 1973). So diskutiert POURTOIS (1968) beispielsweise eine induktive Wirkung des Gaumenfaltenmesenchyms für die Differenzierungsvorgänge des medialen Faltenepithels sowie für dessen Autolyse. Aufgrund der Lokalisation und ihrer daraus vermuteten Funktion konzentriert sich die morphologische Untersuchung solcher Interaktionsprozesse auf Veränderungen der Basalmembran als morphologischem Grenzorgan. Die Basalmembran hat neben ihrer mechanischen Stützfunktion auch funktional selek-

tive Aufgaben, indem sie beispielsweise den Durchtritt bestimmter Makromoleküle verhindern kann (BÄR, 1971); überhaupt wird erst mit der Ausbildung von Basalmembranen eine Abgrenzung zweier, in Bezug auf ihren Stoffwechsel unterschiedlicher Gewebe - wie z.B. Mesenchym und Epithel - möglich.

Morphologische Untersuchungen können hier vermutete funktionale Interaktionen nur in unvollständigem Maße erfassen. Im Hinblick auf mutmaßliche Interaktionsvorgänge muß eine funktionelle Deutung morphologischer Befunde sehr zurückhaltend geäußert werden. Das gilt insbesondere für die Untersuchungen der Basalmembranalterationen während der Phase der Gaumenfaltenfusion, da hierbei erheblich voneinander abweichende Befunde erhoben wurden:

So ist die Art des Verlaufs der Basalmembranen von anderen Untersuchern uneinheitlich beschrieben worden. Eine während der kritischen Zeit - Präfuion, Fusion und während der epithelialen Disruption - kontinuierliche Basalmembran wurde beobachtet von SMILEY and DIXON (1968), DeANGELIS and NALBANDIAN (1968), BRUSATI and MIANI (1968), SHAPIRO and SWENEY (1969), SMILEY (1970), BLUNK (1970), SMILEY and KOCH (1971) und anderen. SMILEY (1970) charakterisierte die Basalmembran daher als "typisch".

Demgegenüber stehen Beobachtungen von FARBMAN (1968), der schon vor der Fusion eine von Epithelfortsätzen durchbrochene, fragmentierte Basalmembran vorfand, bei der ein direkter Kontakt zwischen basalen Epithelzellen und Bindegewebszellen erfolgen könnte; FARBMAN bezeichnete die Basalmembran aufgrund dieser morphologischen Besonderheit als "untypisch" und vermutete als Ursache solcher Diskontinuitäten ein relativ schnelleres Wachstum des Gaumenfaltenbindegewebes gegenüber dem der Basalmembran und dem des Epithels. Funktional gesehen seien die Diskontinuitäten eine notwendige Vorbedingung für die Gaumenfaltenfusion und den Zusammenbruch des Epithelsaumes. SMILEY and KOCH (1971), die eine kontinuierliche Basalmembran auch bei nicht mehr vorhandenen, ihr vorher anhaftenden Epithelzellen beobachteten, wenden dagegen ein, daß ein durch stär-

keres Wachsen des Mesenchyms mitverursachtes Aufreißen des Epithels den Befund einer ununterbrochen verlaufenden Basalmembran nur mit einer ständigen Bildung und Neuformation der Basalmembran während der Disruptionsphase des darüberliegenden Epithels erklärbar mache. Solche "reestablished", kontinuierlich verlaufende Basalmembran haben DeANGELIS and NALBANDIAN (1968) zu einem späten Zeitpunkt der epithelialen Disruption im Bereich der keilförmigen Epithelzellaggregationen am nasalen und oralen Ende der Fusionsnaht beobachtet. Welche Zellen an einer Synthese der Basalmembran teilnahmen, ist allerdings noch nicht ausreichend geklärt. Die Bildung der Basalmembran in ihrer definitiven Struktur scheint extrazellulär zu erfolgen. Die zu ihrer Synthese benötigten Peptid- und Proteinbausteine können außer von mesenchymalen Zellen auch von epithelialen Zellen in deren rauhem endoplasmatischem Retikulum gebildet werden. Neben morphologischen Hinweisen hierfür wird insbesondere der Nachweis von Basalmembran-Antigenen im Epithelzellcytoplasma als beweisend angesehen (nach BÄR, 1971).

Gesichert ist, daß während der Gaumenfaltenfusion auch die Basalmembran morphologisch faßbare Veränderungen erfährt, die einhergehen sollen mit einer Änderung ihres metabolischen Zustandes (MATO et al., 1972). Als Indikator dafür werden ein allmähliches Verschwinden einer erkennbaren Strukturierung sowie Unterschiede in der Anfärbbarkeit mit PAS und Anilinblau angeführt (MATO et al., 1972). Ein Zusammenhang zwischen Vorgängen in der Basalmembran und den epithelialen Degenerationen sowie ein Zusammenhang zwischen Epithelzellveränderungen und dem Zusammenbrechen der Basalmembransubstanz werden unterschiedlich beurteilt. HUGHES et al. (1967) glauben, daß chemische Veränderungen in der Basalmembran einen Faktor für die epitheliale Degeneration darstellen. FARBMAN (1968) hingegen vermutet, daß ein das aktive Zusammenbrechen der Basalmembran bewirkendes Agens die epitheliale Zelle sei, deren cytoplasmatische Vorsprün-

ge zuerst die Basalmembran durchdringen. SMILEY (1970) und SMILEY and DIXON (1968) nehmen an, daß Unterbrechungen bzw. Störungen der Basalmembran nicht direkt mit der Epitheldegeneration verbunden seien.

Als morphologische Voraussetzungen für eine gegenseitige Beeinflussung beider Gewebearten über die Basalmembran sind von seiten der basalen Epithelzellen Hemidesmosomen oder cytoplasmatische Verankerungsvorsprünge denkbar. Hemidesmosomen wurden im Gaumenfaltenfusionsgebiet selten und nur nach eingetretener epithelialer Fusion beobachtet (DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968; HAYWARD, 1969). In der Präfusions- und initialen Anheftungsphase sind keinerlei zelluläre Kontaktspezialisierungen von den basalen Epithelzellen zur Basalmembran hin beobachtet worden; basale Epithelzellmembran und Basalmembran verlaufen annähernd parallel und sind durch einen Spalt voneinander getrennt. Die Verbindung des Mesenchyms mit der Basalmembran erfolge über vom Mesenchym her einstrahlende, feine Filamente (BLUNK, 1970) bzw. durch von Kollagen unterschiedenes, fibrilläres Material, das sich in der Matrix des Bindegewebes befindet. Die Basalmembran wird zum Zeitpunkt der epithelialen Fusion nicht von cytoplasmatischen Fortsätzen mesenchymaler Zellen durchdrungen (HAYWARD, 1969). Erst während der mesenchymalen Fusionsphase schieben sich fibroblastische Filopodien durch die strukturlos und homogen erscheinende Basalmembran in die relativ großen Spalten zwischen den epithelialen Zellen (SMILEY and DIXON, 1968).

Weitere Mechanismen, über die eine Beeinflussung bzw. induktive Aktion erfolgen könnte, wie beispielsweise Nerven und Gefäße, dürften entsprechend den Befunden von LEIMEISTER (1970) bei den Fusions- und Epithelauf Lösungsvorgängen wohl keine Rolle spielen.

Bei unseren Untersuchungen kam es zu einem gleichbleibenden Einreißen der Basalmembranen nach eingetretener epithelialer Fusion, beginnend in den Mittelbereichen der Fusionsnaht an Stellen, die den Bereichen stärkster

Krümmung der abgerundeten Gaumenfaltenspitzen vor ihrer Fusion entsprechen. Hierbei war zum Zeitpunkt des Einreißen der Basalmembranen kein auffälliger Unterschied in Bezug auf das vorliegende Vitalitäts- bzw. Degenerationsstadium der Epithelzelle im Einrißbereich gegenüber den Bereichen, in denen die Basalmembranen den Epithelzellen noch über weite Strecken kontinuierlich anlagen, zu beobachten. Aus diesem Grunde kann die Frage nach der zeitlichen Reihenfolge vom Auftreten degenerativer Alterationen in den Epithelzellen und dem Einreißen der Basalmembranen und davon abgeleitet die Frage nach deren Ursache und Wirkung anhand unserer Befunde im Rahmen dieser Arbeit nicht klar beantwortet werden.

Zweifelsfrei kommt es im Anschluß an die epitheliale Fusion zu einer Verbreiterung der Gaumenfalten im Bereich ihrer abgerundeten Spitzen, so daß im Verlaufe der Fusion eine Niveaungleichung an die übrigen Gaumenfaltenabschnitte in diesen Bereichen erreicht wird. Da dieser Vorgang nicht über eine verstärkte Proliferation des Gaumenfaltenmesenchyms eintritt, der über Zunahme von mitotischen Bildern im Mesenchym erfaßbar wäre, muß eine Turgorerhöhung als ursächliche Wachstumskraft vermutet werden (SMILEY and KOCH, 1971). Infolge dieses Breitenwachstums muß es zu einer Dehnung und letztlich zu einem Einreißen der Basalmembranen und einer entsprechenden Dissoziation der ihr aufliegenden Epithelzellen kommen, sofern man nicht eine permanente Neubildung von Basalmembrananteilen zum Ausgleich dieser Zugspannung annimmt (s.O.), für die unsere Befunde keinerlei Anhalt geben. Diese Fähigkeit zur Basalmembranneubildung wird besonders von den Untersuchern unterstützt, die zu späten Zeitpunkten der Epitheldisruption noch eine kontinuierliche Basalmembran im Fusionsgebiet beobachtet haben (vgl. DeANGELIS and NALBANDIAN, 1968; SHAPIRO and SWENEY, 1968; SMILEY and KOCH, 1971). Davon unberührt bleibt die Tatsache, daß nach abgeschlossener mesenchymaler Fusion von den nasalen und oralen Gaumenfaltenepithelien zur Überbrückung des ehemaligen Fusionsgebietes eine Basal-

membran neu synthetisiert wird. In engem zeitlichen Zusammenhang mit dem Rupturieren der Basalmembranen kommt es synchron zu einer Verdünnung des Epithelsaums im mittleren Fusionsbereich und zu einer Anhäufung epithelialer Zellen an den nasalen und oralen Enden des Fusionsssaumes, deren Auflösung erst sehr spät erfolgt. Die Zusammengehörigkeit dieser beiden Vorgänge ergibt sich aus dem Fehlen proliferativer Prozesse im Bereich der Epithelzellaggregationen, so daß hier eine de-novo-Bildung von Epithel ausgeschlossen ist. Der Synchronismus beider Vorgänge wird durch analoge Befunde anderer Untersucher bestätigt (FARBMAN, 1968; SMILEY and KOCH, 1971; MATO et al., 1972). Analoge Epithelzellansammlungen während der Organogenese sind auch in anderen Organsystemen beschrieben worden beispielsweise als epitheliale Scheitelleisten bei der Extremitätenentwicklung (SCHWEICHEL, 1972) oder bei der Rekanalisation des Darmlumens (WENDLER, 1972). - Ungeklärt ist die Frage, ob es sich bei den Lageveränderungen der Epithelzellen im Gaumenfaltenfusionsgebiet um aktive oder passive Bewegungsvorgänge handelt. Die morphologischen Hinweise sind nicht eindeutig. So könnten diese im Querschnitt dreieckigen Zellaggregationen rein passiv aufgrund einer senkrecht zur Fusionslinie wirkenden Wachstumskraft entstehen, die in der Gaumenfaltenmitte zwischen nasaler und oraler Faltenbegrenzung am größten wäre und zu den oralen und nasalen Rändern hin abnähme. Unter der Annahme, daß die Basalmembranen vor ihrem Einreißen durch auf sie von mesenchymaler Seite her einwirkende Kräfte gedehnt würden und sie daher unter Zugspannung stünden, wäre die Ausrichtung der auf ihnen verankerten Epithelzellen durch die zu den oralen und nasalen Seiten hin gerichteten Retraktionsbewegungen während des Einreißens zu erklären. Da die Basalmembranen an mehreren Stellen im Zentrum des Fusionsgebietes einreißen, sind ihre vermuteten Retraktionsbewegungen diskontinuierlich, so daß als Folge davon das Zurückbleiben von unterschiedlich gruppierten Epithelzellinseln entlang der Fusionsnaht resultiert.-

Aktive Zellwanderung, die als sog. "programmierte" zelluläre Wanderungen in sich entwickelnden Systemen anderer Tierspezies beobachtet worden seien (TRINKAUS, 1973, zitiert nach WATERMAN and MELLER, 1974), setzt vitale, dazu befähigte Zellen voraus. Zwar konnten in den eigenen elektronenmikroskopischen Bildern stellenweise entlang intakter Basalmembranabschnitte eine gewisse axiale Ausrichtung der gesunden oder sich noch in einem sehr frühen Degenerationsstadium befindlichen Epithelzellen beobachtet werden, aber auffällige zelluläre Hinweise für aktive Zellwanderung wie Pseudopodienbildung, Mikrotubuli oder Mikrofilamente, über die ein Zellbewegungsmechanismus am ehesten erklärt werden könnte, gab es nicht. Es erscheint auch relativ unwahrscheinlich, daß in einem Bereich, der sich im Stadium zunehmender Degeneration befindet, kontrollierte, räumlich und zeitlich koordinierte Bewegungen eines Zellverbandes möglich wären.

Zusammenfassung

Die Gaumenfalten von NMRI-Mäuseembryonen wurden während der Palatogenese (Tag 13 + 7 Std. p.c. bis Tag 15 + 2 Std. p.c.) makroskopisch, licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Für die makroskopische Beurteilung wurden präparierte Köpfe decapitierter Mäuseembryonen in modifizierter KARNOVSKY-Lösung fixiert und photographiert. Exemplare, bei denen der Gaumenschluß eingetreten war, wurden zusätzlich mit Nilblausulfat-Lösung gefärbt, um die Fusionszone besser zur Darstellung zu bringen.

Die für die definitive Gaumenbildung erforderliche Aufrichtung der paarigen Gaumenfalten beginnt posterior und setzt sich in wellenförmiger Bewegung nach anterior (rostral) fort. Gegensätzlich zum Aufrichtungsvorgang vollzieht sich die Fusion der aufeinanderzuwachsenden Falten, die im Bereich der 3.-5. plica palatina transversa einsetzt und sich nach anterior und posterior fortsetzt. Ein Vergleich von erreichten Entwicklungsstadien während der Palatogenese bei chronologisch gleichaltrigen Tieren zeigt erhebliche Entwicklungsschwankungen. Mechanische und lokale Faktoren werden als Ursachen für das Zustandekommen solcher Entwicklungsschwankungen sowie für den Asynchronismus bei der Faltenaufrichtung diskutiert, als deren mögliches morphologisches Korrelat eine unterschiedliche Zelldichte im Mesenchym einzelner Gaumenfaltenabschnitte beobachtet wurde.

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung des Gaumenfaltenepithels konnte ein Rutheniumrot-positiver Oberflächenbelag auf den superficialen Epithelzellen der vertikal herabhängenden und der horizontalen Gaumenfalten beobachtet werden, der an den Gaumenfaltenspitzen besonders dick ist. Dieser Oberflächenbelag wird nach der Fusion wieder abgestoßen. Die Lokalisation und die quantitativen Veränderungen während des Gaumenschlusses sprechen für eine funktionale Beteiligung des Oberflächenbelages am Vorgang der initialen epithelialen Anheftung beider Gaumenfalten aneinander.

Die primäre Anheftung beider Gaumenfalten aneinander erfolgt über die Fusion ihrer Epithelien. Diese Epithelzone degeneriert nach dem Kontakt mit der Gegenseite und wird primär autolytisch beseitigt, so daß die definitive mesenchymale Fusion eintreten kann. Diese Autolyse ist charakterisiert durch die Ausbildung von autophagischen Einschlußkörpern im Epithelzellcytoplasma, die erst nach dem physikalischen Kontakt der Epithelien beobachtet wurden. Möglicherweise spielt eine weitere Form der Epithelzellnekrosen, die ohne Cytolysosomenbeteiligung abläuft, ebenfalls eine Rolle bei der Autolyse des epithelialen Fusions-saumes; die morphologischen Befunde lassen hierüber keine klare Entscheidung zu.

Das abgebaute, nekrotische Zellmaterial wird von benachbarten Epithelzellen umschlossen und phagocytiert. Das Gaumenfaltenmesenchym zeigt während der Epithelauflösung primär keinerlei Reaktionen, soll aber die endgültige Beseitigung der verbleibenden Zelltrümmer übernehmen. Dieser Vorgang erfolgt zeitlich sehr spät und spielt bei der Beseitigung der Fusionsepithelien nur eine sekundäre Rolle.

Gleichzeitig mit der Autolyse des epithelialen Fusions-saumes kommt es zum Einreißen der darunterliegenden Basalmembranen und zur Anhäufung epithelialer Zellen an den nasalen und oralen Enden der Fusionsnaht. Es wird diskutiert, ob das Einreißen der Basalmembranen Wachstumsfolge der Gaumenfalten sei und ob die Epithelzellaggregationen am superioren und inferioren Rand der Fusionszone im Zuge von einrißbedingten Retraktionseffekten der Basalmembranen entstehen.

L I T E R A T U R

- ACKERMAN, G.A.: Localization of pyroantimonate
-precipitable cation and surface
coat anionic binding sites in
developing erythrocytic cells
and macrophages in normal human
bone marrow
Z. Zellforsch. 134, 153-166
(1972)
- AINSWORTH, S.K., zitiert nach GREENE and KOCHHAR
ITO, S. and (1974)
KARNOVSKY, M.J.:
- ANGELICI, D. and The role of acid phosphatase in
POURTOIS, M.: the fusion of the secondary pa-
late
J. Embryol. exp. Morph. 20, 15-23
(1968)
- BÄR, Th.: Über die Morphogenese der kapil-
lären Basalmembran während der
Gefäßentwicklung im Cerebralcortex der Ratte
Inaugural-Dissertation an der
Freien Universität Berlin (1971)
- BLUNK, M.: Elektronenmikroskopische Unter-
suchungen am Epithel der Gaumen-
fortsätze von Rattenembryonen
(Tag 14 - 18)
Inaugural-Dissertation an der
Freien Universität Berlin (1970)

- BRUSATI, R. and
MIANI, C.: Ultrastructural features of the
epithelial sheet of the secondary
palate in rats
Acta Bio-Med 39, 1-11 (1968)
- COLEMAN, R.D.: Development of the rat palate
Anat. Rec. 151, 107-118 (1965)
- COOK: zitiert nach ACKERMAN (1972)
- DeANGELIS, V. and
NALBANDIAN, J.: Ultrastructure of mouse and rat
palatal processes prior to and
during secondary palate formation
Archs oral Biol. 13, 601-608
(1968)
- FARBMAN, A.I.: Electron microscope study of pa-
late fusion in mouse embryos
Develop. Biol. 18, 93-116 (1968)
- FARBMAN, A.I.: The epithelium-connective tissue
interface during closure of the
secondary palate in rodent embryos
J. Dent. Res. 48 (Suppl. to No 5),
617-623 (1969)
- GLÜCKSMANN, A.: Cell death in normal vertebrate
ontogeny
Biol. Rev. 26, 59-86 (1951)
- GOERTTLER, K.: Der pränatale Organismus als rea-
gierendes Subjekt
In: Teratogenesis
Symp. Schweiz. Akad. Med. Wiss.
20, 336-359 (1963)
Schwabe und Co, Basel - Stuttgart
1964

- GREENE, R.M. and KOCHHAR, D.M.: Surface coat on the epithelium of developing palatine shelves in the mouse as revealed by electron microscopy
J. Embryol. exp. Morph. 31, 683-692 (1974)
- HAYWARD, A.F.: Ultrastructural changes in the epithelium during fusion of the palatal processes in rats
Archs oral Biol. 14, 661-678 (1969)
- HUDSON, C.D. and SHAPIRO, B.L.: A radioautographic study of desoxyribonucleic acid synthesis in embryonic rat palatal shelf epithelium with reference to the concept of programmed cell death
Archs oral Biol 14, 77-84 (1973)
- HUGHES, L.V., FURSTMAN, L. and BERNICK, S.: Prenatal development of the rat palate
J. Dent. Res. 46, 373-379 (1967)
- HUMPHREY: zitiert nach WATERMAN and MELLER (1974)
- IDOYA-VARGAS, V., NASJLETI, C.E. and AZCURRA, J.M.: Cytodifferentiation of the mouse secondary palate in vitro: morphological, biochemical and histochemical aspects
J. Embryol. exp. Morph. 27, 413-430 (1972)

- KREYBIG, Th. von: Experimentelle Praenatal-Toxikologie
Editio Cantor KG
Aulendorf 1968
- LARSSON, K.S.: Closure of the secondary palate and its relation to sulphomucopolysaccharides
Acta Odontol. Scand. 20 (Suppl. to No 31), 1-35 (1962)
- LEIMEISTER, M.-L.: Das elektronenmikroskopische Bild der Nerven und Gefäße in den Gaumenfortsätzen und im definitiven Gaumen bei Rattenembryonen (Tag 14 - 17)
Inaugural-Dissertation an der Freien Universität Berlin (1970)
- LUFT, J.H.: Ruthenium red and violet
a) I. Chemistry, purification, methods of use for electron microscopy and mechanism of action
Anat. Rec. 171, 347-368 (1971)
b) II. Fine structural localisation in animal tissues
Anat. Rec. 171, 369-416 (1971)
- MATO, M., AIKAWA, I. and KATAHIRA, M.: Alteration of fine structure of the epithelium on the lateral palatine shelf during the secondary palate formation
Gunma J Med Sci 16, 79-99 (1967)

- MATO, M., SMILEY, G.R.
and DIXON, A.D.: Epithelial changes in the presumptive regions of fusion during secondary palate formation
J. Dent. Res. 51, 1-12 (1972)
- MERKER, H.J. und
GÜNTHER, Th.: Die elektronenmikroskopische Darstellung von Glykosaminoglykanen im Gewebe mit Rutheniumrot
Histochemie 34, 293-303 (1973)
- MILLER, H.G. and
SHAPIRO, B.L.: Determinants of epithelial breakdown in palatal fusion
Internat. Ass. for Dent. Res., J. Dent. Res. 26, Abstract No 26 (1968)
- NANDA, R. and
KELLY, W.M.: An ultrastructural study of palatal fusion in rat embryos
Internat. Ass. for Dent. Res., J. Dent. Res. 52, Abstract No 211 (1973)
- NEUBERT, D.: persönliche Mitteilung (1975)
- NEUNER, B.: Das elektronenmikroskopische Bild des Mesenchyms der Gaumenfalten bei Rattenembryonen (Tag 14 bis 17)
Inaugural-Dissertation an der Freien Universität Berlin (1970)
- POURTOIS, M.: Onset on the acquired potentiality for fusion in the palatal shelves of rats
J. Embryol. exp. Morph. 16, 171-182 (1966)

- POURTOIS, M.: La fusion des crêtes palatines et son alteration par quelques agents teratogenes
Arch. de Biol. (Liège) 79, 110-176 (1968)
- PRATT, R.M.,
GIBSON, W.A. and
HASSELL, J.R.: Concanavalin A binding to the secondary palate of the embryonic rat
Internat. Ass. for Dent. Res., J. Dent. Res. 52, Abstract No 210 (1973)
- RAMBOURG, A.: Morphological and histochemical aspects of glycoproteins at the surface coat of animal cells
Internat. Rev. Cyt. 31, 57-114 (1971)
- RAMBOURG, A.,
NEUTRA, M. and
LEBLOND, C.P.: Presence of a 'cell coat' rich in carbohydrate at the surface of cells in the rat
Anat. Rec. 154, 41-71 (1966)
- ROSS, L.M. and
WALKER, B.E.: Movement of palatine shelves in untreated and teratogen-treated mouse embryos
Amer. J. Anat. 121, 509-517 (1967)
- SAUNDERS, J.W.: Death in embryonic systems
Science 154, 604-612 (1966)
- SCHWARZ, W.: Der praecorneale Glykosaminoglykan-Film beim Haushuhn
Z. Zellforsch. 138, 295-298 (1973)

- SCHWARZ, W.: The surface film on the mesothelium of the serous membranes of the rat
Z. Zellforsch. 147, 5955-597 (1974)
- SCHWEICHEL, J.-U.: Morphological studies on the problem of physiological cell death during embryonic development
Metabolic pathways in mammalian embryos during organogenesis and its modification by drugs
Freie Universität Berlin 1970
- SCHWEICHEL, J.-U.: Das elektronenmikroskopische Bild des Abbaues der epithelialen Scheitelteile während der Extremitätenentwicklung bei Rattenfeteten
Z. Anat. Entwickl.-Gesch. 136, 192-203 (1972)
- SCHWEICHEL, J.-U. und MERKER, H.J.: The morphology of various types of cell death in prenatal tissues
Teratology 7, 253-266 (1973)
- SCHWEICHEL, J.-U. und SEINSCH, W.: Die Entwicklung des Bewegungsapparates der Rattenzunge im Licht- und Elektronenmikroskop
Z. Anat. Entwickl.- Gesch. 140, 153-171 (1973)
- SEINSCH, W.: Der surface-coat embryonaler Hohlräume (RATHKE'sche Tasche und Neuralrohr) der Maus
unveröffentlicht

- SHAH, R.M. and
CHAUDRY, A.P.: Light microscopic and histochemical observation on the development of the palate in the Golden Syrian hamster
J. Anat. 117, 1-15 (1974)
- SHAPIRO, B.L. and
SWENEY, L.R.: Electron microscopic and histochemical examination of oral epithelial-mesenchymal interaction (programmed cell death)
J. Dent. Res. 48 (Suppl. to No 5), 652-659 (1969)
- SMILEY, G.R.: Fine structure of mouse embryonic palatal epithelium prior to and after midline fusion
Archs oral Biol. 15, 287-296 (1970)
- SMILEY, G.R. and
DIXON, A.D.: Fine structure of midline epithelium in the developing palate of the mouse
Anat. Rec. 161, 293-310 (1968)
- SMILEY, G.R. and
DIXON, A.D.: Fine structure of embryonic midline in the developing palate
J. Cell. Biol. 31, 162 A (1966)
- SMILEY, G.R. and
KOCH, W.E.: Fine structure of palate fusion in mouse embryo
J. Dent. Res. 50, 1671-1677 (1971)
- SMILEY, G.R. and
KOCH, W.E.: An in vitro study of single palatal processes
Anat. Rec. 173, 405-416 (1972)

- SOUCHON, R.: Surface coat of the palatal shelf epithelium during palatogenesis in mouse embryos
Anat. Embryol. 147, 133-142 (1975)
- STARK, R.B. and
EHRMANN, N.A.: Development of the center of the face with particular reference to surgical correction of bilateral cleft lip
Plast. Reconstr. Surg. 21, 177-192 (1958)
- SWENEY, L.R. and
SHAPIRO, B.L.: Histogenesis of Swiss white mouse secondary palate from nine and one-half days to fifteen and one-half days in utero
I. Epithelial-mesenchymal relationships - light and electron microscopy
J. Morph. 130, 435-449 (1970)
- VARGAS, V.I.: Palatal fusion in vitro in the mouse
Archs oral Biol. 12, 1283-1288 (1967)
- WALKER, B.E.: The association of mucopolysaccharides with morphogenesis of the palate and other structures in mouse embryos
J. Embryol. exp. Morph. 9, 22-31 (1961)
- WALKER, B.E.: Palate morphogenesis in the rabbit
Archs oral Biol. 16, 275-286 (1971)

- WALKER, B.E. and FRASER, F.C.: Closure of the secondary palate in three strains of mice
J. Embryol. exp. Morph. 4, 176-189 (1956)
- WALKER, B.E. and ROSS, L.M.: Observations of palatine shelves in living rabbit embryos
Teratology 5, 97-102 (1972)
- WATERMAN, R.E. and MELLER, S.M.: Alterations in the epithelial surface of human palatal shelves prior to and during fusion: a scanning electron microscopic study
Anat. Rec. 180, 111-135 (1974)
- WATERMAN, R.E., ROSS, L.M. and MELLER, S.M.: Alterations in the epithelial surface of A/Jax mouse palatal shelves prior to and during palatal fusion: a scanning electron microscopic study
Anat. Rec. 176, 361-367 (1973)
- WEIB, P.: Guiding principles in cell locomotion and cell aggregation
Exp. Cell Res. Suppl. 8, 260-281 (1961)
- WENDLER, D.: Der embryo-fetale Zelltod während der Normogenese und im Experiment
Acta historica Leopoldina, Neue Folge 8
Joh. Ambrosius Barth, Leipzig 1972
- WRAGG, L.E., DIEWERT, V.M. and KLEIN, M.: Spatial relations in the oral cavity and the mechanism of secondary palate closure in the rat
Archs oral Biol. 17, 683-690 (1972)

Abbildungen

Abb. 1 a - h: Makroskopischer Ablauf des Gaumenschlusses bei Mäuse-embryonen (ME): Aufsicht von ventral-caudal auf die Oberkieferregion mit Nasooralkavität, Unterkiefer ist mit Zunge entfernt

a) ME Tag 13 + 7 Std. p.c., frühes Stadium der Palatogenese:

Offene Nasooralkavität (X) wird durch parallel zueinander verlaufende Auswülstungen der sich in vertikaler Richtung entwickelnden Gaumenfalten (G) seitlich begrenzt und erscheint rechteckig.

Nilblausulfat-Färbung; Vergrößerung: 1 : 18

b) ME Tag 14 + 4 Std. p.c., Stadium kurz vor Gaumenfaltenumlagerung:

Wulstförmige Gaumenfalten (G) in vertikaler Position umklammern anterior die in die Nasooralkavität hineinragende Zunge (Z), posterior verdeckt die Zunge die hinteren Gaumenfaltenabschnitte.

Nilblausulfat-Färbung; Vergrößerung: 1 : 20

c) ME Tag 14 + 7 Std. p.c., Stadium der Gaumenfaltenumlagerung:

Rechte Gaumenfalte weitgehend horizontalisiert, linke Gaumenfalte befindet sich zum größten Teil noch in vertikaler Position. Taillenförmige Begrenzung der Nasooralkavität.

Ungefärbtes Präparat; Vergrößerung: 1 : 20

d) ME Tag 14 + 8 Std. p.c., Stadium des initialen Kontaktes der horizontalisierten Gaumenfalten:

Initialer Kontakt beider Gaumenfalten in Höhe der 3. - 5. plica palatinae transversa (→). Zwischen den noch nicht fusionierten Gaumenfalten verbleiben anterior ein gleichschenkelig dreieckiger und posterior ein rhombenförmiger Spaltraum.

Ungefärbtes Präparat; Vergrößerung: 1 : 20

e) ME Tag 14 + 14 Std. p.c., Stadium der abgeschlossenen Gaumenbildung:

Fusionsbereich als mediane, längsverlaufende Einkerbung noch sichtbar (→), gut ausgebildete plicae palatinae transversae (x).

Ungefärbtes Präparat; Vergrößerung: 1 : 15

f) ME Tag 14 + 7 Std. p.c., Stadium der Horizontalisierung:

X-förmige seitliche Begrenzung der Nasooralkavität

Nilblausulfat-Färbung; Vergrößerung: 1 : 23

g) ME Tag 14 + 7 Std. p.c., Stadium des initialen Kontaktes der horizontalisierten Gaumenfalten

Nilblausulfat-Färbung; Vergrößerung: 1 : 20

h) ME Tag 14 + 13 Std. p.c., Stadium der Gaumenfaltendifusion:

Fusionsstelle als kontrastierte Nekroselängsnaht erkennbar.

Nilblausulfat-Färbung; Vergrößerung: 1 : 18

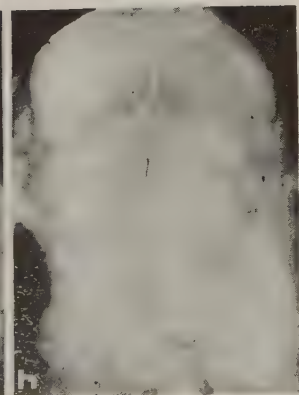
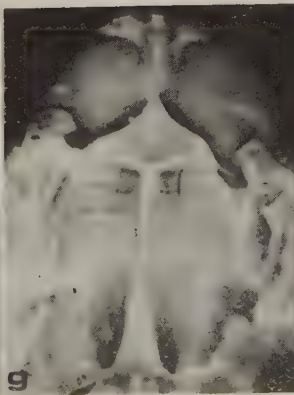
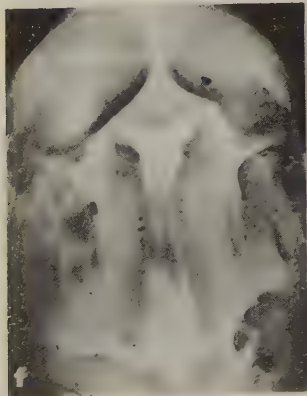
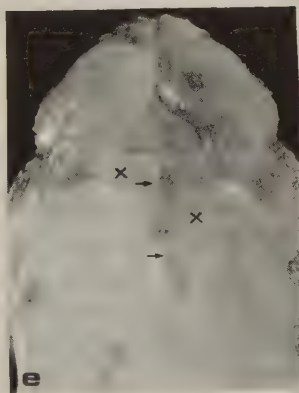
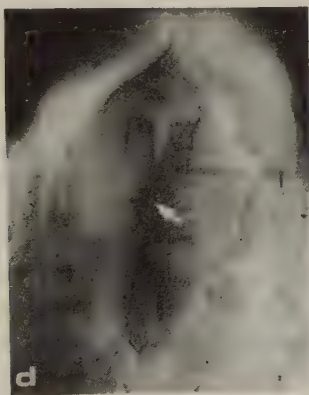
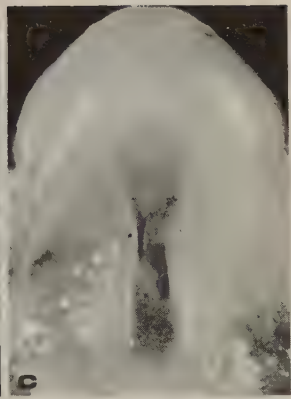
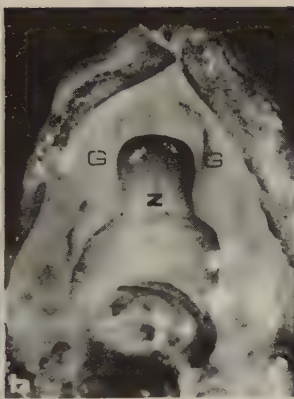


Abb. 2 a - h: Frontale Serienschritte in der Reihenfolge von anterior nach posterior durch den Kopf von ME; Vergrößerung: 1 : 30
a-d: ME Tag 13 + 7 Std. p.c., frühes Stadium der Palatogenese:

Paarige Gaumenfalten sind als eigenständige, vertikal herabhängende Gewebsvorsprünge aus den Oberkieferwülsten zu erkennen. Beachte die Formunterschiede der Gaumenfalten und die Veränderungen in der Höhen- und Breitenrelation der Nasooralkavität von anterior nach posterior.

- a) Frontalschnitt weit anterior: schlanke, zapfenförmige Gaumenfalten (G), die die Zunge (Z) seitlich umfassen; N = Nasalseptum
 - b) Frontalschnitt durch die Mitte der Nasooralkavität in Höhe der Augen (A): plumpe, dicke Gaumenfalten (G) mit weitbogig abgerundeten inferioren Rändern
 - c) Frontalschnitt hinter der Mitte der Nasooralkavität: breitbasige Gaumenfalten (G) mit eckigen inferioren Rändern
 - d) Frontalschnitt am posterioren Ende der Nasooralkavität: fließender Übergang der Gaumenfalten in die Oberkieferwülste
- e-h: ME Tag 14 + 4 Std. p.c., Stadium der Gaumenfaltenumlagerung:
- Rechte Gaumenfalte horizontalisiert, linke noch in vertikaler Position; Asymmetrie der Nasooralkavität mit Abkippen der Zunge
- e) Frontalschnitt weit anterior in Höhe der JACOBSON'schen Organe: Rechte Gaumenfalte mit "super"-horizontal verlaufender Faltenlängsachse hat Position oberhalb der Zunge erreicht, linke Gaumenfalte liegt noch lateral zur Zunge (Z); N = Nasalseptum
 - f) Frontalschnitt vor der Mitte der Nasooralkavität: Rechte Gaumenfalte hat Kontakt mit dem Epithel des Nasalseptums (N), linke Gaumenfalte mit caudal-medialwärts verlaufender Längsachse scheint noch nicht am Zungenrand vorbeigleiten zu können.
 - g) Frontalschnitt durch die Mitte der Nasooralkavität in Höhe der Augen (A): horizontalisierte rechte Gaumenfalte mit bogenförmig verlaufender Längsachse, vertikale linke Gaumenfalte mit etwa senkrecht verlaufender Faltenlängsachse
 - h) Frontalschnitt am posterioren Ende der Nasooralkavität: semidorsolaterale Lage der rechten Gaumenfalte zur Zunge, Gaumenfaltenslängsachse verläuft in cranial-medialer Richtung. Vertikale linke Gaumenfalte verbleibt lateral zur Zunge, deren abgeschrägter linker Zungenrand kein Hindernis für das Aufwärtsgleiten der Gaumenfalte mehr darstellt.

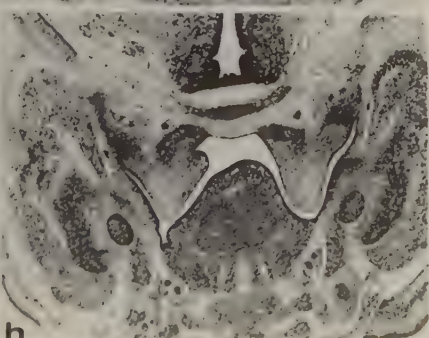
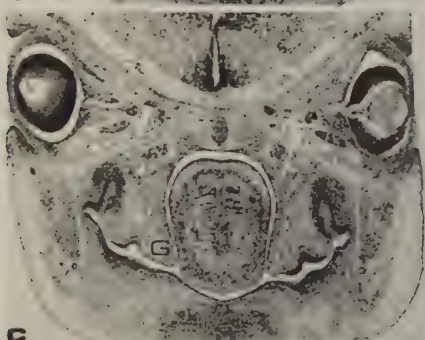
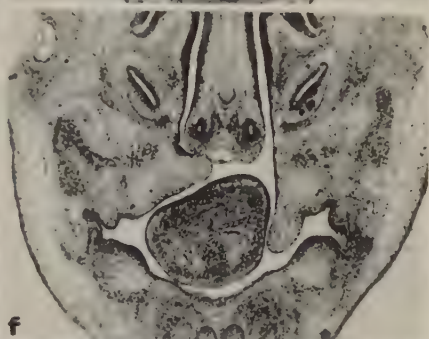


Abb. 3 a - d: Frontalschnitte anterior durch die Nasooralkavität in Höhe der JACOBSON'schen Organe

- a) ME Tag 14 + 9 Std. p.c., Stadium unmittelbar vor Fusion beider Gaumenfalten:

Horizontalisierte Gaumenfalten sind noch durch einen Spaltraum (X) voneinander getrennt. Ihre nasalen Epithelien haben mit dem Epithel des Nasalseptums Kontakt. Die Nasooralkavität weist nach Abschluß der Gaumenfaltenumlagerung wieder eine symmetrische Form auf.

Vergrößerung: 1 : 50

- b-d: ME Tag 14 + 8 Std. p.c., Stadium der epithelialen Fusion beider Gaumenfalten im initialen Kontaktbereich, anterior davon sind beide Gaumenfalten noch durch einen Spalt voneinander getrennt. Dieses Stadium entspricht dem in Abb. 1 d,g.

- b) Frontalschnitt in Höhe des anterioren Spaltraums: Die horizontalisierten Gaumenfalten (G) haben sich zwischen Zunge (Z) und Nasalseptum (N) geschoben. Epithelverdickungen an den medialen Gaumenfaltenrändern (→) sowie in der Mitte des inferioren Randes des Nasalseptums.

Vergrößerung: 1 : 120

- c) Frontalschnitt in Höhe der epithelialen Fusion beider Gaumenfalten, ca. 1 mm posterior von der Schnittebene in Abb. 3 b:

Kontinuierliche epitheliale Gaumenfaltensfusion mit dreieckigen Epithelzellaggregationen an den nasalen und oralen Enden der Fusionsnaht

Vergrößerung: 1 : 120

- d) Ausschnitt aus Abb. 3 c:

Unterschiedliche Dichte epithelialer Zellen im Fusionsbereich der Gaumenfalten. Die dreieckigen Epithelzellaggregationen haben am nasalen Ende der Fusionsnaht die durch die Abrundung der Gaumenfaltenspitzen entstehenden Einkerbungen im Niveau ausgeglichen; am oralen Ende ist die Einkerbung noch erkennbar. Analoge Epithelzellaggregation am inferioren Rand des Nasalseptums.

Vergrößerung: 1 : 300

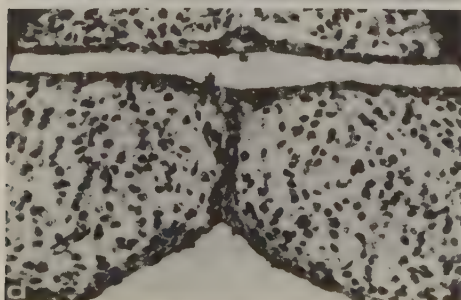
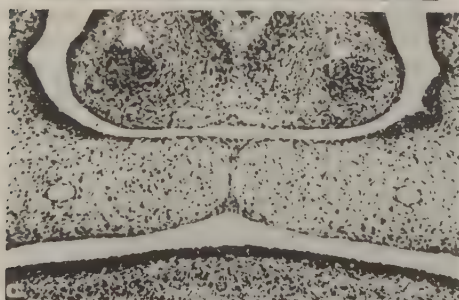
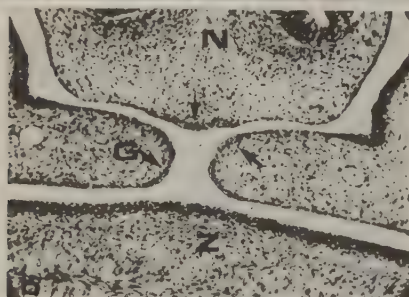
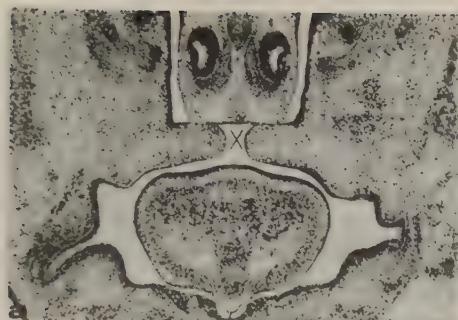


Abb. 4 a -g: Frontalschnitte durch die Fusionsgebiete der Gaumenfalten mit dem Nasalseptum

a+b: ME Tag 14 + 8 Std. p.c., Schnitt durch anterioren Spaltraum (posterior ist epitheliale Fusion schon erfolgt)

a) Von Epithelzellen gebildete, rüsselförmige Vorwölbung des inferioren Randes des Nasalseptums in den Spaltraum zwischen den horizontalisierten Gaumenfalten

Vergrößerung: 1 : 100

b) Ausschnitt aus Abb. 4 a

Vergrößerung: 1 : 250

c+d: ME Tag 14 + 8 Std. p.c., Semidickschnitte

c) Gleichzeitige Fusion der voneinander getrennten Gaumenfalten mit dem Nasalseptum an zwei verschiedenen Stellen. Deutliche Epithelzellanhäufungen in den Fusionsgebieten

Vergrößerung: 1 : 160

d) Ausschnitt aus Abb. 4 c

Vergrößerung: 1 : 320

e-g: ME Tag 14 + 9 Std. p.c., gleichzeitige Fusion der Gaumenfalten miteinander und mit dem Nasalseptum; Semidickschnitte

e) Schnitt unmittelbar anterior vom Fusionsgebiet, Fusionsepithelien noch durch Spalträume voneinander getrennt

Vergrößerung: 1 : 200

f) Gleichzeitige Fusion der Gaumenfalten und des Nasalseptums; Schnittebene liegt ca. 1 mm posterior von der in Abb. 4 e

Vergrößerung: 1 : 200

g) Ausschnitt aus Abb. 4 f

Epithelialer Gaumenfaltenfusionssaum ist in den Mittelabschnitten diskontinuierlich

Vergrößerung: 1 : 320

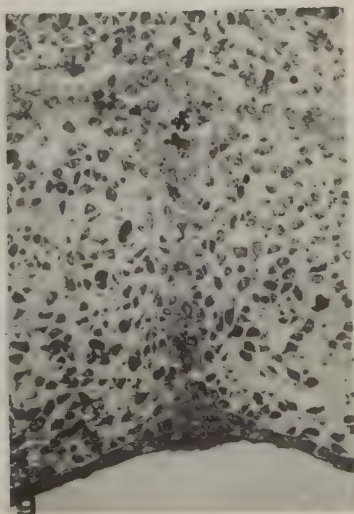
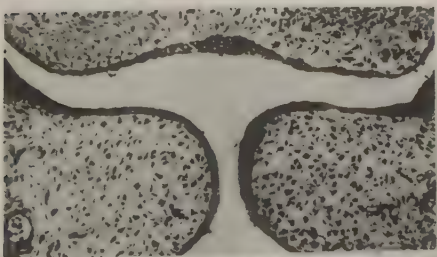
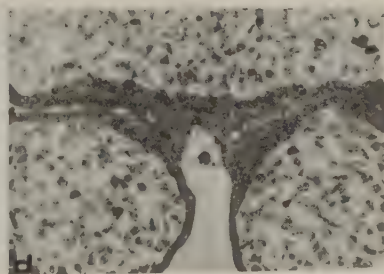
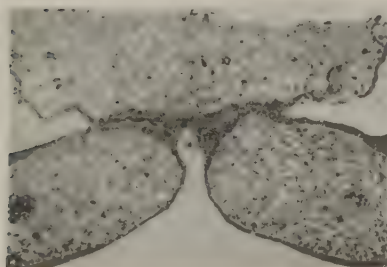
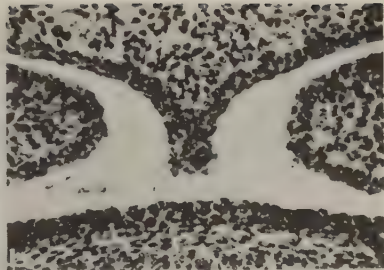
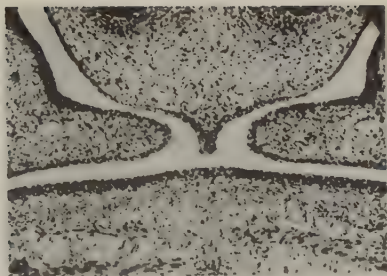


Abb. 5: ME Tag 14 + 5 Std. p.c.

Epithel an der Spitze der vertikal herabhängenden Gaumenfalte

Deutlich sichtbarer Rutheniumrot (RR)-positiver Belag (→) mit unregelmäßiger Oberfläche der Zellmembran dicht anliegend.

Dreischichtiges Epithel $E_1 - E_3$, kontinuierlich verlaufende Basalmembran (B), Mesenchymzellfortsätze (M) mit weiten Interzellularräumen. Superficiale Epithelzelle E_1 erscheint dunkler als die basalen Zellen.

Vergrößerung: 1 : 17.500

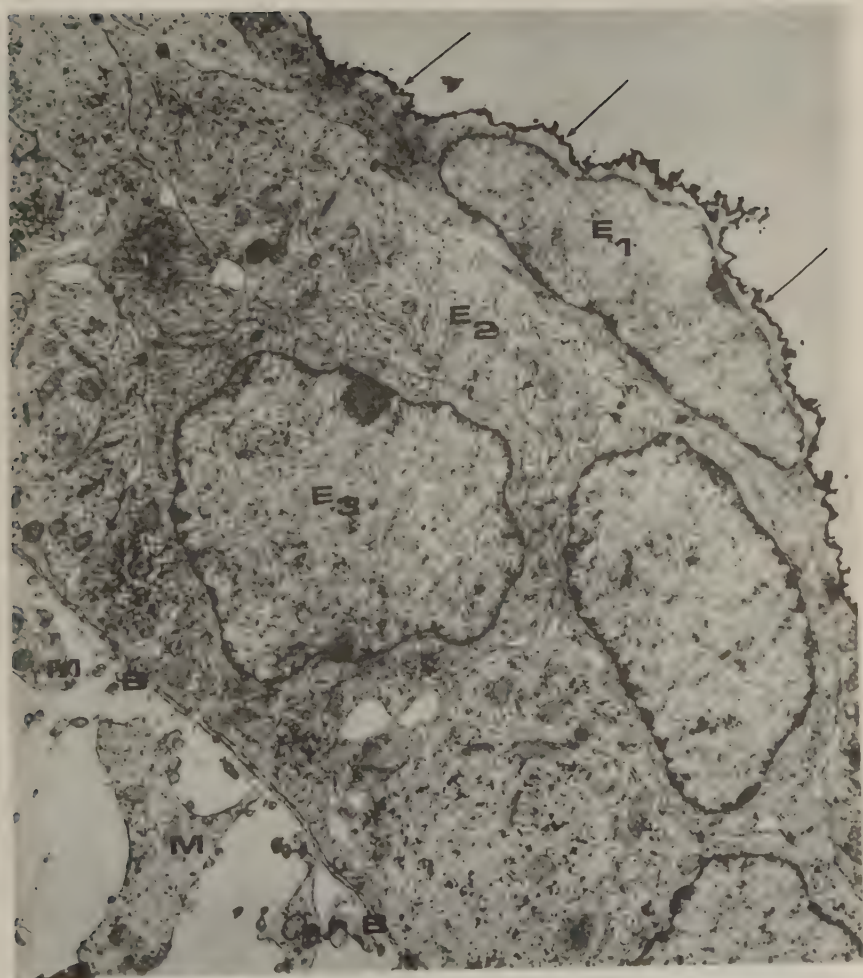


Abb. 6 a + b: ME Tag 14 + 5 Std. p.c., gleiches Präparat wie in Abb. 5
Basale Epithelzellschicht der Gaumenfalten spitze

- a) Basalmembran (B) verläuft kontinuierlich und parallel zu den basalen Epithelzellmembranen und folgt einer epithelialen Cytoplasmaausstülpung ins Mesenchym hinein. Im Cytoplasma der Epithelzellen weitflächige, granuläre Glycogenareale (*).

Vergrößerung: 1 : 20.000

- b) Interzelluläre Kontakte erfolgen über cytoplasmatische Verzahnungen ($\rightarrow$) und sog. close contacts ($\bullet\rightarrow$) zwischen den benachbarten basalen Epithelzellen. Dazwischen unregelmäßig weite Interzellularspalte. * = Glycogen

Vergrößerung: 1 : 20.000

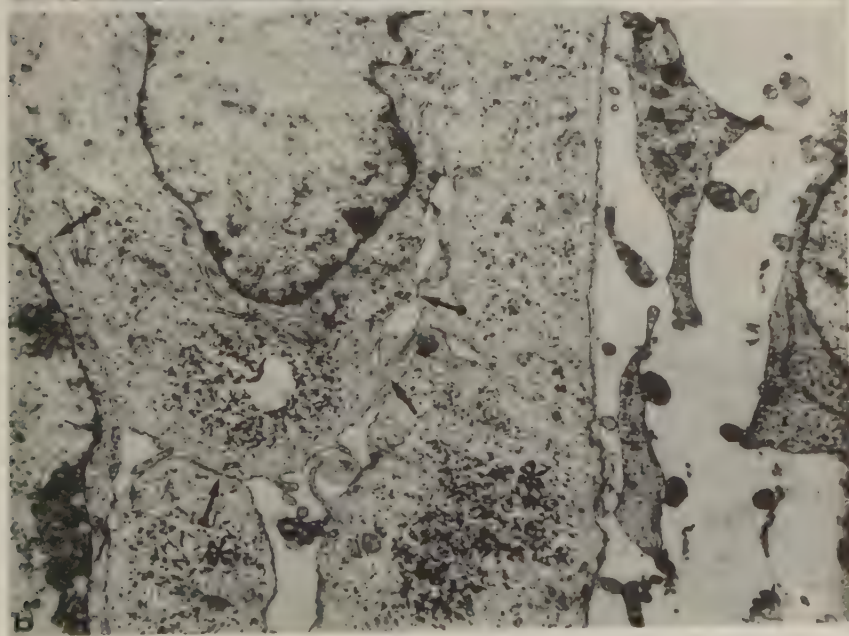
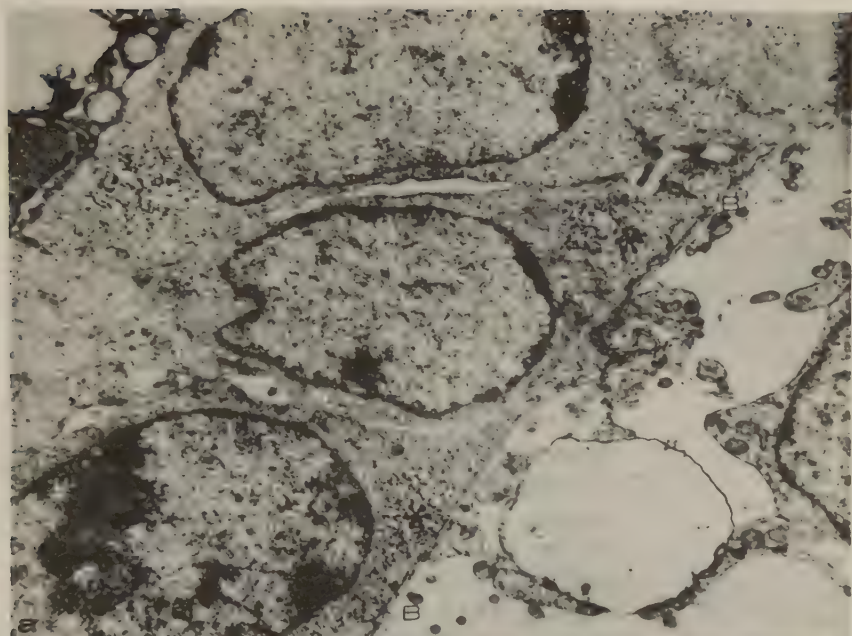


Abb. 7 a + b: ME Tag 14 + 5 Std. p.c., gleiches

Präparat wie in Abb. 5

Epitheliale Oberfläche an der Spitze
der vertikal herabhängenden Gaumenfalte

- a) Typisches dreischichtiges Epithel mit
kontinuierlichem, homogen-grobgranulärem
RR-positivem Oberflächenbelag (→).
Das Cytoplasma der superficialen Epithel-
zellen weist eine stärkere Betonung der
granulären Zellelemente auf und erscheint
elektronendichter als das Cytoplasma der
basalen Epithelzellen. Die Epithelzellen
weisen gut ausgebildete Zellorganellen
auf; M = Mitochondrien, eR = endoplasma-
tisches Retikulum, * = Glycogen
Vergrößerung: 1 : 35.000

- b) Betonte, bandförmige Kontrastierung des
Cytoplasmas der Peridermzellschicht (*).
Kontinuierlicher Oberflächenbelag (→),
vereinzelte Mikrovilli (•→) an der lumen-
wärtigen Peridermzellseite.
Vergrößerung: 1 : 15.000

Abb. 8 a - c: ME Tag 14 + 9 Std. p.c., Oberflächenbelag auf dem Epithel der Gaumenfalte von Abb. 5

- a+b) Epitheloberfläche an der Spitze der Gaumenfalte (mutmaßliches Präfusions-epithel) mit kontinuierlichem, 300 Å dickem, grobgranulärem RR-positivem Belag (→), der sich stellenweise traubenförmig von der Oberfläche ablöst (•→); gut ausgebildete Mikrovilli (O→).

Vergrößerung: a) 1 : 42.000 b) 1 : 45.000

- c) Oberfläche des basisnahen Epithels derselben Gaumenfalte mit einem kontinuierlichen, aber schwächeren RR-positiven Oberflächenbelag (→).

Vergrößerung: 1 : 30.000

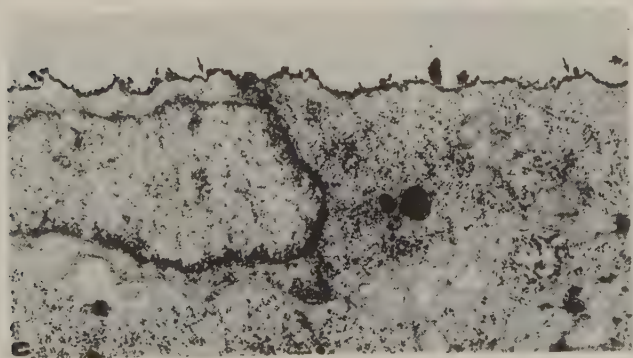
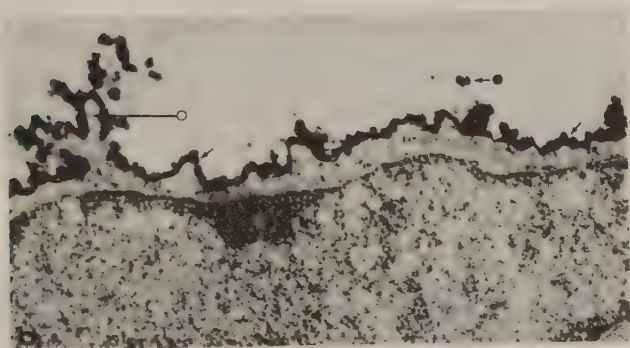
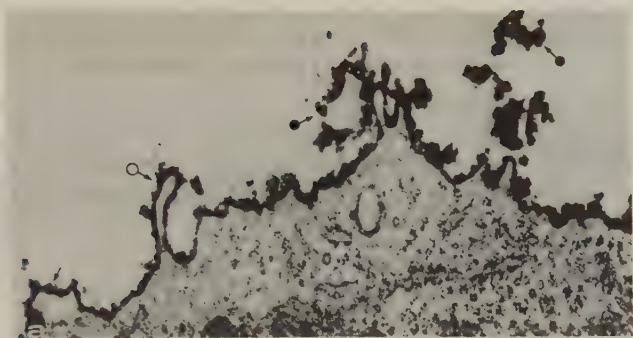


Abb. 9 a - d:

- a+b: ME Tag 14 + 9 Std. p.c., Oberfläche
der horizontalisierten Gaumenfalte
aus Abb. 4 e
- a) Epithel an der Spitze der horizonta-
lisierten Gaumenfalte (Fusionsepithel)
mit kontinuierlichem, RR-positivem
Oberflächenbelag (→).
Vergrößerung: 1 : 30.000
- b) Epithel an der oralen Seite derselben
Gaumenfalte mit einem teilweise fehlen-
den (●→) oder deutlich schwächeren (→→)
RR-positiven Belag.
Vergrößerung: 1 : 50.000
- c+d: ME Tag 14 + 5 Std. p.c., Stadium des
Vorbeigleitens der sich aufrichtenden
Gaumenfalte an der Zunge
Kontaktzone zwischen medianem Gaumenfal-
tenepithel (G) und Zungenepithel (Z):
- c) Zungen- und Gaumenfaltenepithel sind
noch durch einen schmaler werdenden
Spaltraum (X) voneinander getrennt. Kon-
tinuierlicher, unterschiedlich starker
RR-positiver Belag (→→) auf dem Gaumen-
faltenepithel.
Vergrößerung: 1 : 12.000
- d) Engster Kontakt zwischen Zungen- und
Gaumenfaltenepithel mit fehlendem Inter-
zellularspalt und RR-positivem Ober-
flächenbelag.
Vergrößerung: 1 : 12.000

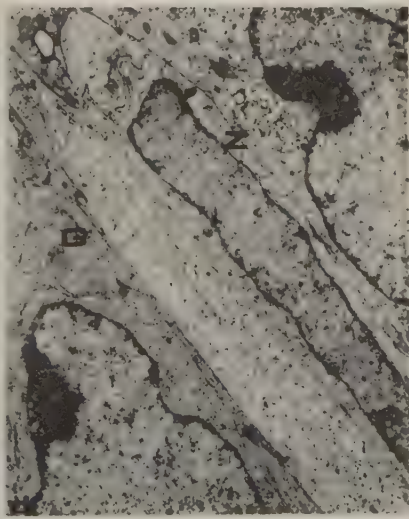
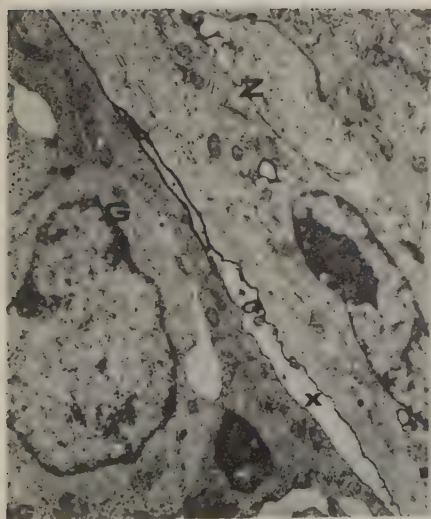
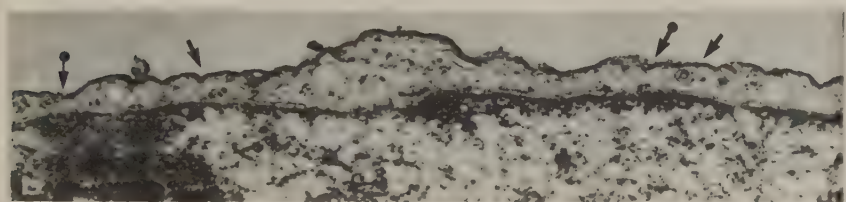


Abb. 10 a - d: ME Tag 14 + 9 Std. p.c., Oberfläche
des oralen Epithels in der Nähe der
Fusionsstelle (s. Abb. 13 b)
Ablösung des RR-positiven Oberflächen-
belages in Form von traubenförmigen,
granulären Aggregaten (*), halbmond-
förmigen Verdichtungen (→) oder
lamellären Abhebungen (•→).

Vergrößerung: a) 1 : 52.000
b) 1 : 62.000
c) 1 : 75.000
d) 1 : 87.000

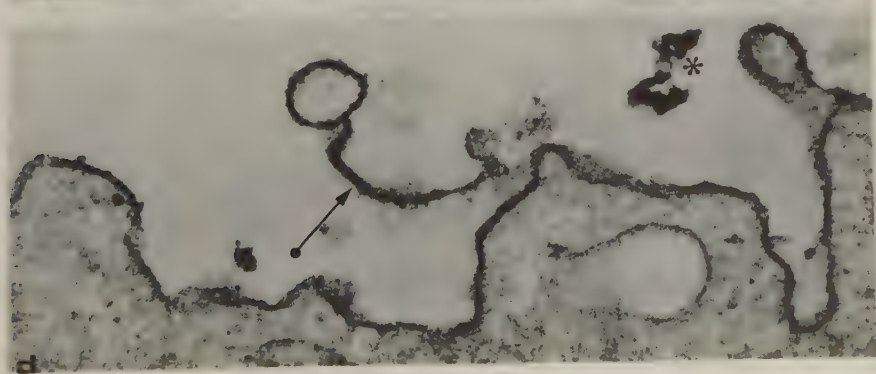
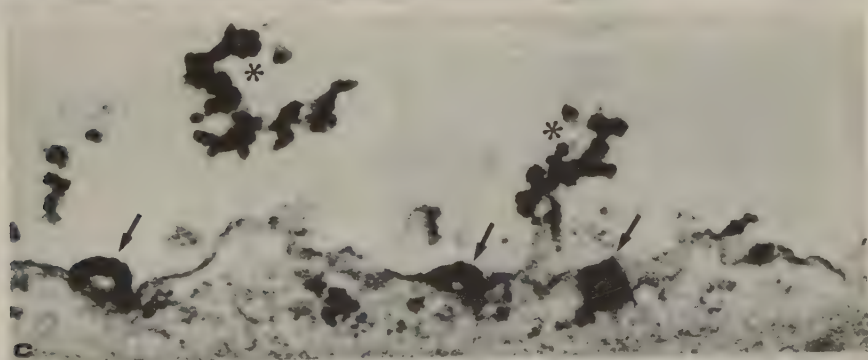
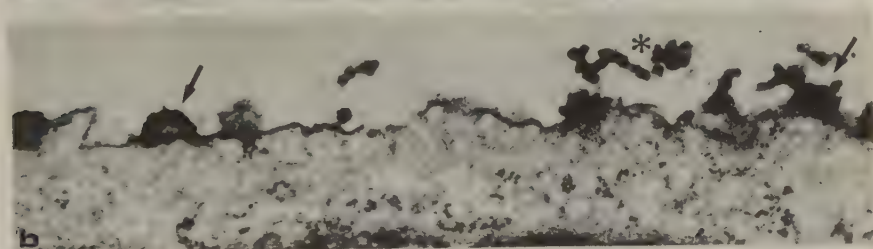
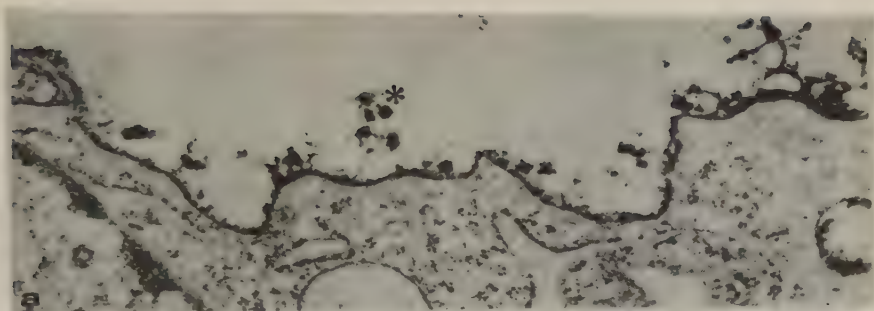


Abb. 11 a + b: ME Tag 14 + 8 Std. p.c., Präfusionsepithel aus Abb. 4 e

- a) Interzelluläre Kontakte über gut ausgebildete Verzahnungen ($\rightarrow$) und close contacts ($\blacksquare\rightarrow$). Auftreten von Membranumgrenzen, optisch leeren, vakuoligen Strukturen im Cytoplasma ($\bullet\rightarrow$).

Vergrößerung: 1 : 25.000

- b) Dicht gepacktes Epithel mit nur vereinzelt Interzellularspalten ($\rightarrow$). Deutliche Helligkeitsunterschiede zwischen benachbarten Epithelzellen, die darüberhinaus keine morphologischen Unterschiede aufweisen.

Vergrößerung: 1 : 25.000

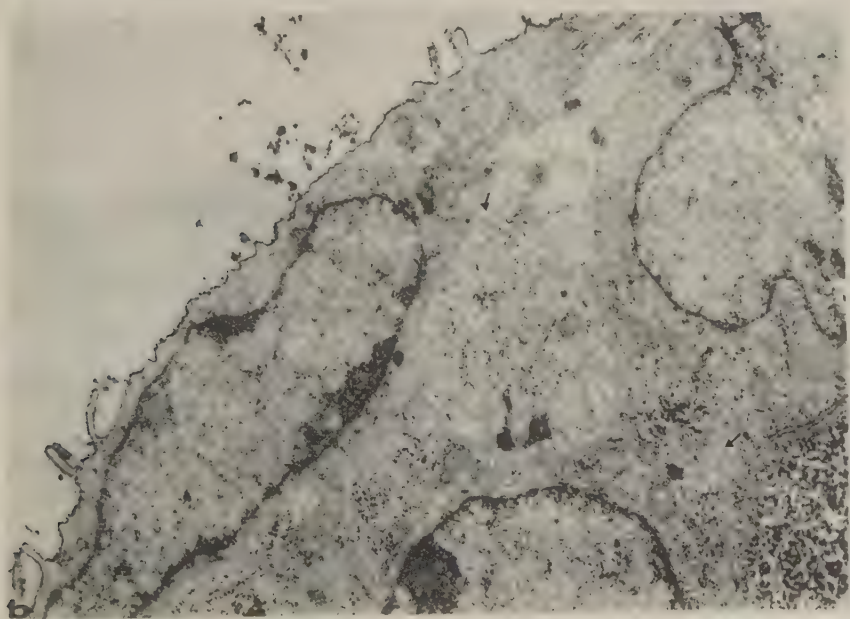
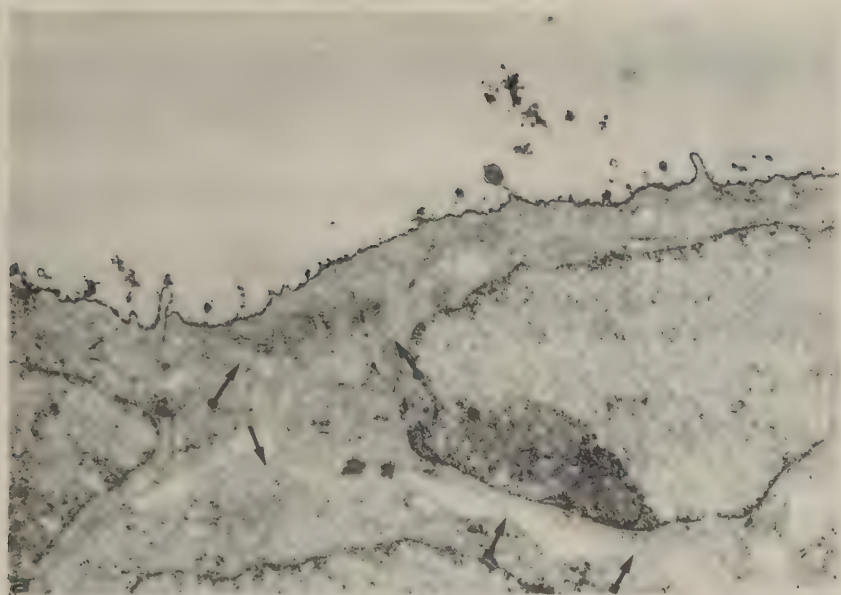


Abb. 12: ME Tag 14 + 8 Std. p.c., Präfusionsepithel
aus Abb. 11

Übersichtsbild der einander angenäherten,
unmittelbar vor ihrer Fusion stehenden
Gaumenfaltenspitzen. Ihr Epithel ist unre-
gelmäßig zwei- bis dreischichtig und weist
keine degenerativen Alterationen bzw. Ne-
krosen im Fusionsbereich auf. Unauffälliges
Mesenchym (M).

Vergrößerung: 1 : 2.600

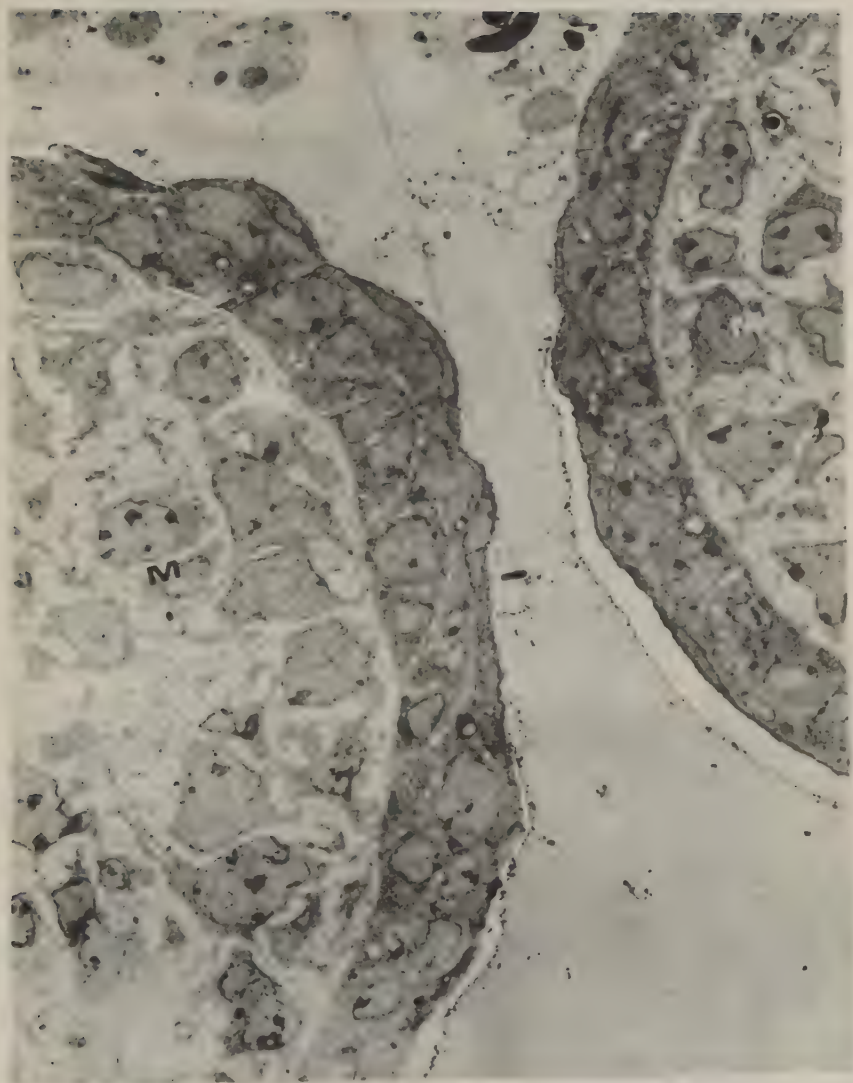


Abb. 13 a + b: ME Tag 14 + 9 Std. p.c., epitheliale
Gaumenfaltenfusion
Die folgenden Abbildungen stammen von
unmittelbar benachbarten Fusionsgebieten.
Epithelzellen in unterschiedlichen
Degenerationsstadien:

- a) Diskontinuierliches Fusionsepithel in
Gaumenfaltenmitte. Aufgerissene (•→)
oder fehlende (→) Basalmembran mit
sich in die freien Räume zwischen die
Epithelzellen schiebenden Mesenchym-
zellfortsätzen (M).
Vergrößerung: 1 : 2.500
- b) Dreieckige Epithelzellaggregation am
oralen Ende der Fusionsnaht. Längs-
achbiale Ausrichtung der Epithelzellen
parallel zu den Seiten des epithelia-
len Dreiecks.
Vergrößerung: 1 : 2.500

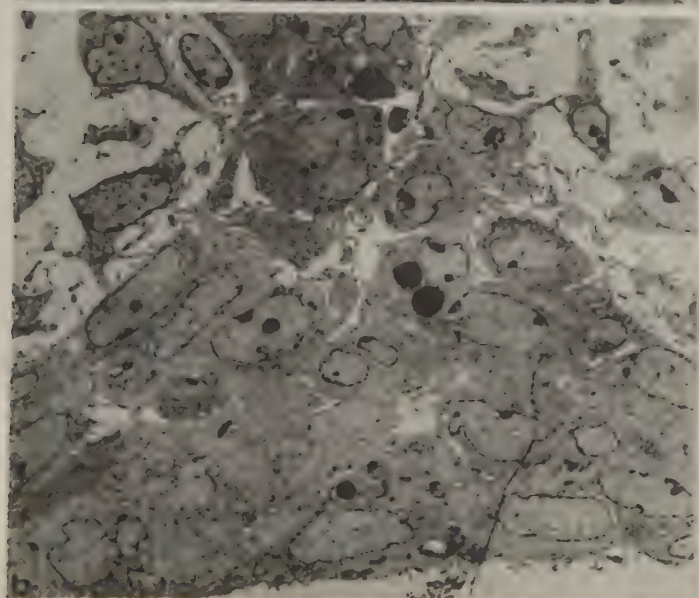
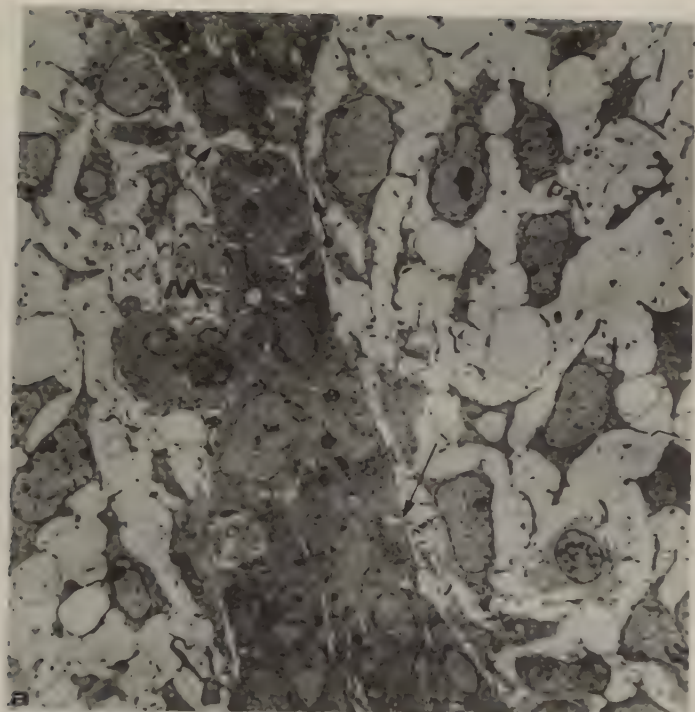


Abb. 14: Fusionsepithel im Bereich der dreieckigen oralen Epithelzellaggregation

Deutlich sichtbare Unterschiede in den Degenerationsstadien benachbarter Epithelzellen. Verdichtetes Extrazellulärmaterial mit flächigen, verwaschenen, stärker kontrastierten Strukturen (X); cytoplasmatische Einschlusskörper in verschiedenen Entwicklungsstadien (C).

Beginnende Auflösung der zellulären Begrenzungsstrukturen (→), Basalmembran (B) noch kontinuierlich und parallel zur basalen Zellmembran verlaufend.

Vergrößerung: 1 : 10.000



Abb. 15: Fusionsepithel nahe der dreieckigen oralen Epithelzellaggregation
Zellkernalterationen mit Einstülpungen und Einschnürungen (→) und beginnender Kernwandhyperchromatose (●→). Verdichtung des cytoplasmatischen Grundplasma (O). Fusions-epithel dicht zusammengedrängt oder mit weiten Interzellularspalten (X). Cytoplasmatische Einschußkörperchen (C), G = Glycogen
Vergrößerung: 1 : 10.000

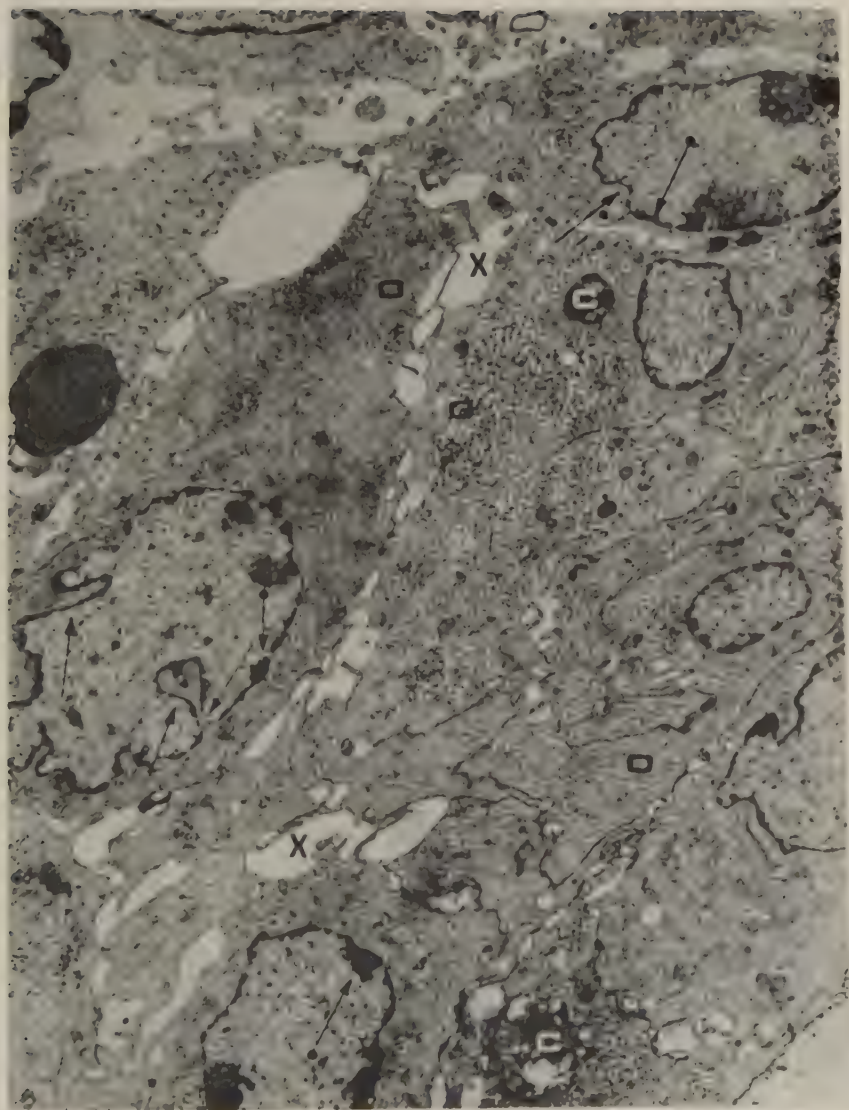


Abb. 16: Gaumenfaltenepithel hoher Packungsdichte nahe der dreieckigen Epithelzellaggregation aus Abb. 13 b; frühes Degenerationsstadium:

Cytoplasmatische Einschlusskörper mit (C) oder ohne (O) Membrangrenzung und Übergreifen der cytoplasmatischen Alterationen auf die Zellkerne (→). Extrazellulär gelegenes, verdichtetes Zelltrümmermaterial (X).

Vergrößerung: 1 : 10.000



Abb. 17 a + b: Ausschnitt aus Abb. 13 a

Epithelzelldegenerationen

- a) Cytoplasmatischer, membranumgrenzter Einschußkörper mit heterogenem Inhalt (C), entspricht Nekrose-Typ II
- b) Cytoplasmatischer Einschußkörper mit fehlender Umschließungsmembran und heterogenem, teilweise stark kontrastiertem Inhalt. Neben dem Einschußkörper wenig alterierter Zellkern (n).

Vergrößerung: a + b: 1 : 20.000

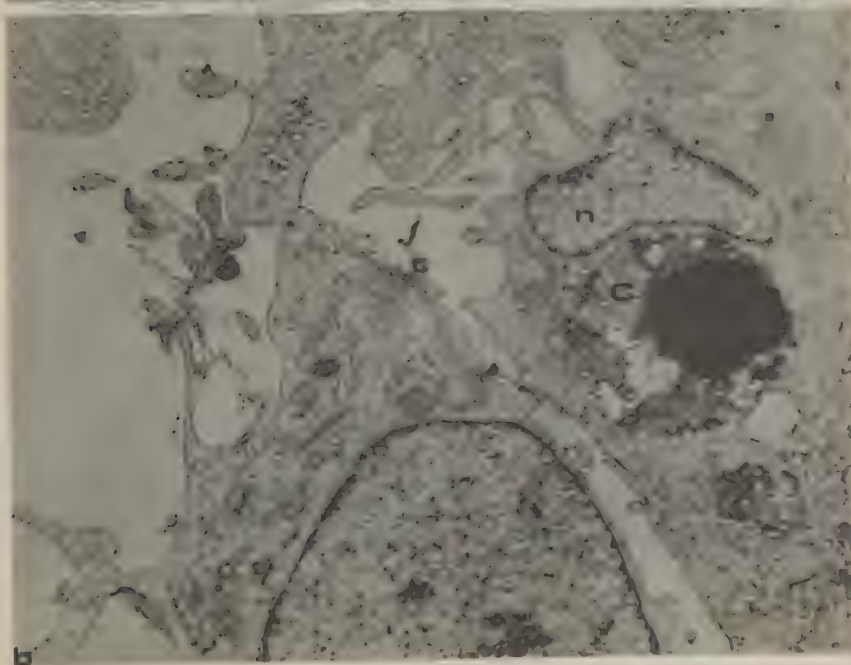
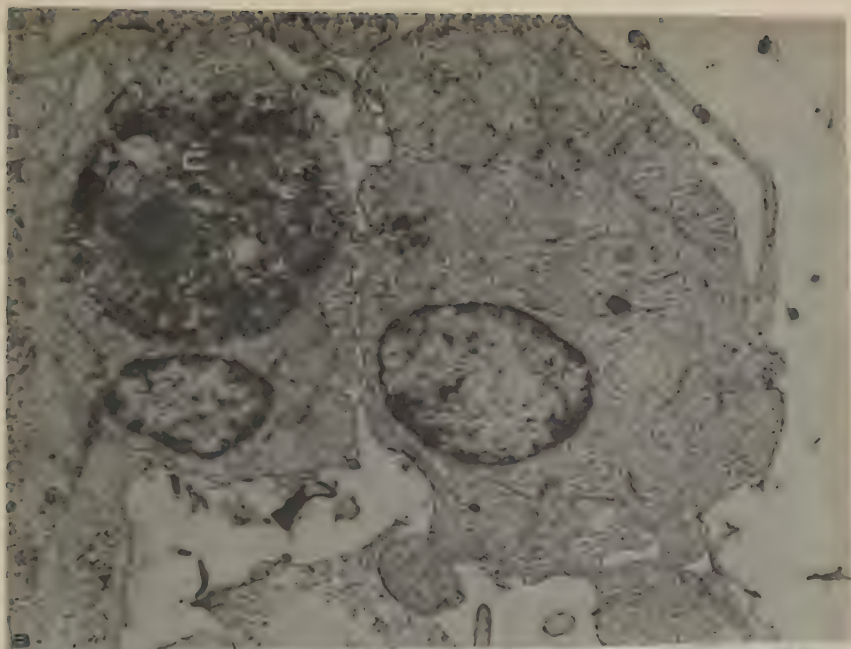


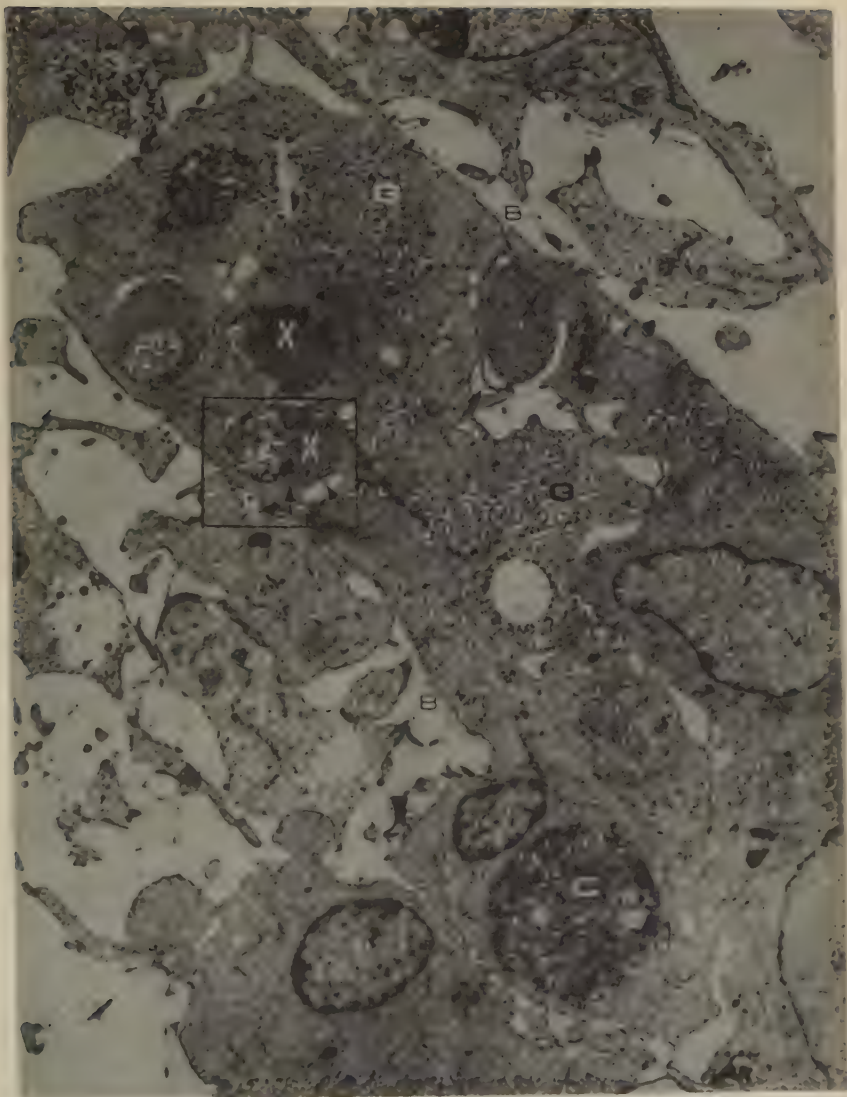
Abb. 18: Gaumenfaltenepithel in der Mitte des
Fusionssaumes, spätes Degenerations-
stadium

Homogene, elektronendichtere Zellfrag-
mente (x) werden von fingerförmigen
Cytoplasmavorsprüngen (→) benachbarter
Epithelzellen umschlossen und phagocy-
tiert (□). Basalmembranen sind aufge-
rissen und nur noch stellenweise als
feinfilamentäres Band zu erkennen (B).

C = cytoplasmatischer Einschlusskörper,

G = Glycogen

Vergrößerung: 1 : 11.000



LEBENS LAUF

Am 17. November 1948 wurde ich als Sohn des Landgerichtsrates Hansjörg Souchon und seiner Ehefrau Hilde Souchon, geb. Strempel, in Berlin geboren.

In Berlin-Zehlendorf besuchte ich zunächst die Grundschule und wechselte dann auf das Evangelische Gymnasium zum Grauen Kloster (humanistisches Gymnasium). Dort legte ich im Februar 1968 die Reifeprüfung ab.

Zum Sommersemester 1969 immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin, an der ich die ärztliche Vorprüfung 1971 und das medizinische Staatsexamen im Februar 1975 jeweils mit der Note "sehr gut" bestand.

Nach dem Staatsexamen arbeitete ich als Medizinalassistent in der Medizinischen Klinik des Klinikum Steglitz der Freien Universität Berlin und in der Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie im Anatomischen Institut der Freien Universität Berlin. Zur Zeit bin ich als Medizinalassistent in der Chirurgischen Klinik des Klinikum Steglitz tätig.

Während meines klinischen Studiums und während meiner Tätigkeit als Medizinalassistent in der Forschungsabteilung für Elektronenmikroskopie fertigte ich die vorliegende Dissertation unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. med. H.J. Merker an.

